Aus der Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten
der Universität Würzburg
Vorstand: Professor Dr. med. H. S c h u e r m a n n

Ü B E R D A S V E R H A L T E N D E R
A N T I - S T R E P T O L Y S I N - R E A K T I O N
B E I V E R S C H I E D E N E N H A U T K R A N K H E I T E N

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius - Maximilians - Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Gertraud Baerthlein

aus Würzburg

Würzburg 1955

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549822_0168

Aus der Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten
der Universität Würzburg
Vorstand: Professor Dr. med. H. Schuermann

ÜBER DAS VERHALTEN DER ANTI-STREPTOLYSIN-REAKTION BEI VERSCHIEDENEN HAUTKRANKHEITEN

Inaugural - Dissertation

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius - Maximilians - Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Gertraud Baerthlein

aus Würzburg

Würzburg 1955

Tag der mündl. Prüfung:

1. Juli 1955

Referent: Professor Dr. H. S c h u e r m a n n

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der

Universität Würzburg

M E I N E M V E R S T O R B E N E N V A T E R

I N D A N K B A R K E I T

G E W I D M E T

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Die historische Entwicklung der Antistreptolysinreaktion	1
Das Prinzip der Antistreptolysinreaktion	4
Die Technik der Antistreptolysinreaktion bei den einzelnen Untersuchern	5
Die Ergebnisse der Antistreptolysinreaktion bei den anderen Untersuchern	18
Die Technik der Antistreptolysinreaktion bei den eigenen Untersuchungen	29
Die Ergebnisse der Antistreptolysinreaktion bei den eigenen Untersuchungen	32
Diskussion	34
Zusammenfassung	42
Literaturverzeichnis	44

Um die Diagnose einer Krankheit stellen zu können, benötigen wir neben der Anamnese und der subjektiven Schilderung der Beschwerden die objektiven Methoden der klinischen Untersuchung. Zu den letztgenannten zählt u. a. die serologische Untersuchung über das Antigen-Antikörper-Geschehen, die gerade in jenen Fällen, in denen ausreichende klinische Symptome fehlen, zur Diagnose oder zum Ausschluß einer vermuteten Krankheit herangezogen werden kann.
Außerdem ermöglicht die fortlaufende quantitative serologische Untersuchung unter Umständen einen Einblick in den Krankheitsverlauf und kann so zur Grundlage für Therapie und Prognose werden.

Die serologische Untersuchung findet Anwendung:

1.) Bei Krankheiten, deren Genese bekannt ist und bei denen sie eine Bestätigung der klinischen Diagnose bringen soll.

2.) Bei unklaren Krankheitsbildern, bei denen mit ihrer Hilfe festgestellt werden soll, ob ein Zusammenhang zwischen der vorliegenden Krankheit und einer bekannten anderen Krankheitsform besteht.

3.) Bei Krankheiten mit unbekannter Genese, bei denen sie zur Ermittlung bestimmter Erregerarten führen kann.

Die historische Entwicklung der Antistreptolysinreaktion.

Bereits in den ersten Jahrzehnten der bakteriologischen Ära benützte S c h o t t m ü l l e r das Haemolysierungsvermögen bestimmter Streptokokkenstämme zur Artunterscheidung der für den Menschen pathogenen Streptokokken. Die sich hierbei ergebende Frage, ob diese Haemolyse durch die Bakterien selbst oder einen von ihnen trennbaren Stoff hervorgerufen wird, veranlaßte B e s r e d k a , R u e d i g e r , L e w i n und L y a l l zu der Annahme, daß das sogenannte Haemolysin ein nicht filtrierbarer Bestandteil der Streptokokken sei, während die Mehrzahl der Untersucher (S c h l e s i n g e r ; L a n d s t e i n e r ; B r a u n ; M'L e o d ; J u n g m a n n ; v. H e l l e s ; R o s e n t h a l ; M e a d e r und R o b i n s o n ; N e i l l und M a l l o r y ; C é s a r i , C o t o n i und L a v a l l e ; T o d d ; S w i f t und H o d g e) das Haemolysin als ein Sekretionsprodukt der Streptokokken betrachteten. In zahlreichen Untersuchungen über die haemolytische Toxinwirkung von Streptokokken-Kulturfiltraten wurden von ihnen sehr große Unterschiede

in der Haemolysekraft festgestellt. Durch Verwendung verschiedener Nährböden wurden die optimalen Bedingungen für eine möglichst hohe, konstante Haemolysinbildung ermittelt, wobei Ascitesbouillon (B e s r e d k a ; v. H e l l e s ; L y a l l) und Serumbouillon (L e w i n ; v. H e l l e s ; T o d d) sich als Grundnährmedium gut bewährten. Schwach alkalische pH-Werte (L y a l l), sowie Zusätze von Pepton (v. H e l l e s ; H e l l e n s ; L y a l l), Hefeextrakt (N e i l l und M a l l o r y), Hefenukleinsäuren (B e r n h e i m e r) und Stärkelösung (L a n d s t e i n e r) zeigten einen besonders günstigen Einfluß auf die Haemolysinbildung, während saure pH-Werte (L e w i n) und Zusätze von Lecithin (M e a d e r und R o b i n s o n), Chloroform und Toluol (L y a l l), sowie Zuckernährböden (B e n t h i n ; L y a l l ; C é s a r i , C o t o n i und L a v a l l e) sich als ungünstig erwiesen. Zunächst wurde von den Untersuchern eine direkte Wirkung des Zuckerzusatzes angenommen, bis C é s a r i , C o t o n i und L a v a l l e nachweisen konnten, daß die Haemolysehemmung durch die von den Bakterien aus dem Zucker gebildeten Säuren hervorgerufen wird. Durch Pufferung dieser Säuren erzielten T o d d und H e w i t t eine verstärkte Haemolysinbildung. Nach S l a d e und K n o x sollen Zusätze von Riboflavinpanthothensäure, Nikotinsäure und Thiamin zu besonders starker Haemolysinproduktion führen.

Die Frage, ob Virulenz und Haemolysierungsvermögen eines Streptokokkenstammes parallel gehen, wurde von M'L e o d dahingehend beantwortet, daß eine enge Verknüpfung dieser beiden Faktoren bestehe. S c h l e s i n g e r ließ diese Beziehung nur bei pathogenen Stämmen gelten, während L e w i n , D e m a r t i n o , R o s e n t h a l , L y a l l , sowie H o d g e und S w i f t einen Zusammenhang zwischen Haemolyse und Virulenz vollständig ablehnten. In den Untersuchungen zur Erforschung der Eigenschaften des Streptokokkenhaemolysins, des sogenannten Streptolysins, wurde von B e s r e d k a und L a n d s t e i n e r festgestellt, daß das Maximum der Haemolysinbildung nach 24 stündiger Bebrütung der Kulturen erreicht ist, während B r a u n , v. H e l l e s , H e l l e n s , L y a l l , De K r u i f , C é s a r i , C o t o n i und L a v a l l e die größte Haemolysinausbeute nach 7 - 18 Stunden erzielten.

Außerdem wurde eine deutliche Temperaturabhängigkeit der Streptolysinbildung nachgewiesen: Während bei 0° C nur eine sehr langsame Streptolysinbildung festzustellen war (D e m a r t i n o), wurden

bei 37° C optimale Werte erreicht (C é s a r i , C o t o n i und L a v a l l e). Bei 56° C dagegen wurde das Streptolysin bereits in seiner Wirkungskraft beeinträchtigt (L a n d s t e i n e r ; L y a l l und bei 60 - 70° C irreparabel geschädigt (B e s r e d k a ; M a r m o r e k ; S c h l e s i n g e r ; R u e d i g e r ; L e w i n ; B r a u n ; v. H e l l e s ; D e m a r t i n o ; L y a l l ; C é s a r i , C o t o n i und L a v a l l e). Für die Aufbewahrung des Streptolysins erwies sich nach R u e d i g e r , sowie nach C é s a r i , C o t o n i und L a v a l l e eine Kühlschranktemperatur von + 4° C als besonders günstig, jedoch berichteten N e i l l und M a l l o r y , sowie S a x h o l m auch über eine gute Haltbarkeit des Streptolysins bei Zimmertemperatur.

Von H e l l e s berichtete, daß das Haemolysin der Streptokokken ätherlöslich sei. Nach C é s a r i , C o t o n i und L a v a l l e soll das Haemolysin durch Pepsinverdauung und durch Antiseptika wie z. B. Chloroform und Formaldehyd zerstört werden. G o r d o n erreichte eine Aufhebung der haemolytischen Wirkung durch Kongorot, I t o durch verschiedene Farbstoffe der Trypanblaureihe. N e i l l und M a l l o r y wie auch T o d d stellten die Sauerstoffempfindlichkeit des Streptolysins fest, wodurch viele mißglückte Versuche zum Nachweis und zur Konstanterhaltung des Haemolysins ihre Erklärung fanden.

Während M a r m o r e k und B r a u n noch annahmen, daß es nur ein allen Streptokokkenstämmen gemeinsames Haemolysin gäbe, wies T o d d 1932 nach, daß von den Streptokokken zwei haemolysierende Toxine gebildet werden, und zwar das Streptolysin O und das Streptolysin S. Beide sollen sich durch folgende Eigenschaften unterscheiden: Das Streptolysin S ist sauerstoffstabil, während das Streptolysin O sehr sauerstoffempfindlich ist und nur in reduziertem Zustand verwendet werden kann. Während das Streptolysin S allein von Streptokokken der Gruppe A, und zwar nur in serumhaltigem Milieu gebildet wird, wird das Streptolysin O auch in serumfreien Nährböden sowohl von Streptokokken der Gruppe A, als auch der Gruppen human C und G erzeugt. Gegen Hitze und Säureeinwirkung ist das Streptolysin S empfindlicher als das Streptolysin O. Der wichtigste Unterschied zwischen den beiden Streptolysinen besteht jedoch darin, daß das Streptolysin O eine spezifische Antikörperbildung hervorrufen kann, während das Streptolysin S nur unspezifische Antikörper zu erzeugen vermag. Nach Ansicht des Verfassers soll die unterschiedliche Wirkung der beiden Stoffe dadurch zustande kommen, daß es sich bei dem Streptolysin O um ein

"Voll-Antigen" handelt, während das Streptolysin S kein "Voll-Antigen" sei.

R u e d i g e r , B r a u n , M'L e o d , L y a l l , C é s a r i , C o t o n i und L a v a l l e wie auch B o u r d i n untersuchten das Serum von Tieren auf seinen Gehalt an Antikörpern. Alle genannten Autoren, mit Ausnahme von C é s a r i , C o t o n i und L a v a l l e , fanden bereits bei gesunden Tieren Antikörper gegen die Streptolysine, die sogenannten Antistreptolysine. Ähnliche Untersuchungen führten J u n g m a n n , M'L e o d , L y a l l , B o u r d i n und T o d d mit menschlichen Sera durch, und kamen zu ähnlichen Ergebnissen. Doch erst T o d d wies darauf hin, daß die Antistreptolysinmenge im Serum gegebenenfalls auf eine Beteiligung von Streptokokken an einer bestehenden Krankheit schließen lasse. Er schuf die Grundlage einer Technik zum Nachweis der Antistreptolysine im menschlichen Serum, die nach einigen Modifikationen durch C o b u r n und P a u l i , von K a l b a k ihre heute gültige Form erhielt.

Das Prinzip der Antistreptolysinreaktion.

Die Antistreptolysinreaktion (ASR) ist eine echte Antikörperreaktion. Sie beruht auf der Tatsache, daß bestimmte Streptokokkenstämme dazu fähig sind, haemolysierende Toxine - die sogenannten Streptolysine - zu bilden. Beim Menschen und bei verschiedenen Tieren werden dann als Schutz gegen diese Toxine spezifische Antikörper - die sogenannten Antistreptolysine - erzeugt, die die Wirkung der Streptolysine hemmen oder abschwächen. Auf dieser Eigenschaft der Antistreptolysine beruht die Durchführung der ASR. Da die Streptolysine Erythrozyten aufzulösen vermögen, wird bei der ASR als Indikatorsystem eine Hammel-oder Kaninchenblutkörperchenaufschwemmung in physiologischer NaCL-Lösung verwendet. Im sogenannten "Vorversuch" werden steigende Verdünnungen eines aus Streptokokkenkulturen gewonnenen Streptolysins mit jeweils gleichbleibenden Mengen der Erythrozytenaufschwemmung zusammengebracht und auf diese Weise festgestellt, welche Streptolysinmenge gerade noch fähig ist, die zugegebene Erythrozytenaufschwemmung vollständig zu haemolysieren. Im anschließenden "Hauptversuch" zur Bestimmung des Antistreptolysintiters (AST) wird dann das Doppelte derjenigen Streptolysinmenge verwendet, die im Vorversuch gerade noch eine vollständige Haemolyse hervorrufen konnte. Unter Zusatz steigender Verdünnungen des zu untersuchenden Serums wird diejenige Serumverdünnung ermittelt, deren Antistreptolysinge-

halt gerade noch ausreicht, um eine vollständige Hemmung der Haemolyse zu bewirken. Der reziproke Wert dieser Serumverdünnung wird dann als AST bezeichnet und basierend auf den Werten eines Vergleichs- oder Standardserums in internationalen Einheiten (Anti-Streptolysin-Units = A.S.U.) angegeben.

Obgleich nahezu jeder Mensch bereits einmal durch Streptokokken infiziert wurde und daher in fast jedem menschlichen Serum Antistreptolysin nachgewiesen werden kann, soll die Menge der vorhandenen Antikörper während und kurz nach einer durch Streptokokken hervorgerufenen Krankheit jedoch wesentlich größer sein als bei denjenigen Patienten, bei denen eine solche Krankheit schon Jahre zurückliegt. Daher soll der AST zur Entscheidung der Frage herangezogen werden können, ob bei einer gerade bestehenden Krankheit Streptokokken beteiligt sind oder nicht.

Die Technik der Antistreptolysinreaktion bei der einzelnen Untersuchern

Die zu den neueren serologischen Reaktionen gehörende Antistreptolysinreaktion (ASR) wird in den skandinavischen Ländern seit etwa einem Jahrzehnt routinemäßig vorgenommen, während sie in Deutschland bisher nur aus wissenschaftlichem Interesse in wenigen Laboratorien durchgeführt wird. Für die skandinavischen Länder ist die Technik von K a l b a k bestimmend, der in Deutschland die Modifikationen von S c h e i f f a r t h und L e g l e r sowie von S e i f e r t und T i c h y gegenüberstehen und deren Einzelheiten im folgenden näher ausgeführt werden sollen.

Für die Gewinnung des Streptolysins wird ein S t r e p t o k o k k e n s t a m m benötigt, der eine kräftige Streptolysinbildung aufweist. K a l b a k empfahl dafür frische Reinkulturen von Streptokokken der Gruppe A und verwendet am Staten Serum Institute in Kopenhagen einen von G r i f f i t h ' s Originalstämmen, den Stamm S 84, der zur Gruppe A, Typ 3 gehört. Da dieser Stamm S c h e i f f a r t h und L e g l e r zuerst nicht zur Verfügung stand, gelang es ihnen erst nach Untersuchung einer Reihe von frisch aus den Rachenabstrichen von Scharlachkranken isolierten Streptokokkenstämmen der Gruppe A einen geeigneten Stamm (Stamm D 7140/49) zu finden, doch führten sie ihre späteren Untersuchungen mit dem vom Staten Serum Institute Kopenhagen zur Verfügung gestellten Stamm S 84 durch. Auch S e i f e r t und T i c h y führten zunächst ihre Versuche mit dem selbst ausgewählten Stamm 1425 durch, bis sie aus Dänemark den Stamm S 84

erhielten. Über die Züchtung der Stämme berichteten S e i f e r t und T i c h y , daß tägliche Überimpfungen auf flüssige 0,1 %ige Traubenzuckernährböden einen günstigen Einfluß auf die Produktion des Streptolysin O ausübten. K a l b a k wie auch S c h e i f f a h r t und L e g l e r erwähnten, daß der Streptokokkenstamm als Stichkultur bei + 4° C etwa einen Monat lang aufbewahrt werden könne. Außerdem könne der Stamm in dehydrierter Form in Ampullen bei + 4° C konserviert werden. Durch Unterkühlung und Evakuierung müsse jedoch vorher nahezu der gesamte Wassergehalt der Kultur entfernt werden.

Für die R i n d e r h e r z b o u i l l o n schrieben K a l b a k sowie S c h e i f f a r t h und L e g l e r folgende Zusammensetzung vor:

Auf 500 g fett- und sehnenfreies, feingemahlenes Rinderherz kam ein Liter aqua dest. Diese Mischung wurde für 12 Stunden bei + 4° C im Eisschrank aufbewahrt und danach 10 Minuten lang gekocht. Anschliessend wurde das Fleisch leicht ausgepreßt und das Expressat filtriert. Das Filtrat wurde mit 20 g Pepton Witte pro Liter versetzt und mit 5n NaOH auf pH 8 eingestellt. Dann wurde zuerst durch Filterpapier und anschließend durch ein Berkefeldfilter Nr. N 11 filtriert und die Bouillon im Kühlschrank bei + 4° C aufbewahrt. Wurde die Bouillon erst nach einiger Zeit verwendet, so war es notwendig, den pH-Wert zu überprüfen, da sich dieser bei längerem Aufenthalt im Eisschrank nach der saueren Seite verschob. Nach S c h e i f f a r t h und L e g l e r soll die Züchtung des Stammes auch mit der üblichen Fleischwassertraubenzuckerbouillon durchgeführt werden können, während Züchtungsversuche mit Fleischextraktbouillon (10 g Liebigs Fleischextrakt auf 1.000 ccm Aqua dest.) ein weniger befriedigendes Ergebnis zeigten.

Vor dem Beimpfen wurden übereinstimmend von allen Autoren zu jedem Liter Rinderherzbouillon 40 ccm einer Salzlösung folgender Zusammensetzung zugegeben:

Glukose.....5,0
$NaHCO_3$.....5,0
NaCL.....5,0
$Na_2HPO_4 \cdot 12\ H_2O$..2,5
Aqua dest.....100,0

Diese Lösung mußte vor Gebrauch stets frisch zubereitet und durch ein Berkefeldfilter Nr. N 11 filtriert werden.

Nach Zugabe der Salzlösung zur Rinderherzbouillon wurde diese mit der sogenannten "V o r k u l t u r" beimpft und kam dann für 16 Stunden bei 37° C in den Brutschrank. Die Vorkultur, von der 10 ccm pro Liter Bouillon zugefügt wurden, bestand bei den oben genannten Autoren aus 1 %iger Traubenzuckerbouillon, die mit dem betreffenden Streptokokkenstamm beimpft und 6 Stunden bei 37° C bebrütet worden war.

Für die Gewinnung des S t r e p t o l y s i n O mußten die Streptokokkenkulturen auf ihre Reinheit geprüft werden. K a l b a k untersuchte die Streptokokkenbouillon nach 16 stündiger Bebrütung durch Aussaat auf Blutagarplatten, während S c h e i f f a r t h und L e g l e r berichteten, daß in den meisten Fällen die mikroskopische Untersuchung von Objektträgerpräparaten dieser Kultur ausreichen dürfe.

S e i f e r t und T i c h y nahmen nach erwiesener Reinheit der Kultur nur eine Filtration mit einem Berkefeldfilter Nr. N 11 vor, während K a l b a k sowie S c h e i f f a r t h und L e g l e r empfahlen, die Bouillon erst zu zentrifugieren (4.000/Min. für 20 Min.) und anschließend die überstehende Flüssigkeit durch ein Seitzfilter oder ein Berkefeldfilter Nr. N 11 zu filtrieren.

Die Reduktion und Evakuierung der Bouillon wurde von K a l b a k , von S c h e i f f a r t h und L e g l e r , und von S e i f e r t und T i c h y übereinstimmend folgendermaßen vorgenommen:

Das Filtrat wurde für 1 Stunde in ein Vakuum von - 760 mm Hg gebracht. Sie verwendeten dazu einen Anaerobentopf und eine Vakuum-Ölpumpe. Nach einer Stunde wurde das Vakuum unterbrochen und zur Reduktion 0,1 % Natriumhydrosulfit ($Na_2S_2O_4$) und 1 % 1n NaOH zugesetzt. Dann wurde das Filtrat nochmals für 1 Stunde im Vakuum aufbewahrt. Entscheidend für die Aktivität des Streptolysins in diesem Filtrat war nicht die Dauer, sondern die "Güte" des Vakuums, bei dessen Einhaltung S e i f e r t und T i c h y bereits nach einstündigem Evakuierungsprozeß sehr gutes, lagerfähiges, aktives Streptolysin O erhielten.

K a l b a k gab zu der Streptolysinbouillon noch folgende Anmerkungen: Die Streptolysinbouillon enthielt zunächst beide Streptolysine; Streptolysin O und Streptolysin S. Allerdings war das Streptolysin S nur in geringer Menge enthalten, da die Bedingungen infolge der zu hohen Temperatur und des zu niedrigen pH-Wertes für seine Ent-

stehung nicht sehr günstig waren. Die optimalen Bedingungen für die Bildung von Streptolysin S lagen bei 15 Std. und die Bebrütung sollte bei + 30° C in zuckerfreier Bouillon erfolgen. T o d d stellte fest, daß nach einigen Wochen Kühlschrankaufenthalt bei + 4° C jede Spur von Streptolysin S aus dem reduzierten Filtrat verschwunden war, und K a l b a k empfahl daher, die Bouillon vor Gebrauch zunächst für diese Zeit stehen zu lassen.

Sämtliche obengenannten Autoren schlugen für die Aufbewahrung der Streptolysinbouillon eine Flasche mit Bodenhahn vor, in der die Bouillon mit einer etwa 5 - 8 cm dicken Lage sterilen Paraffins überschichtet wurde. Falls keine entsprechende Flasche vorhanden war, empfahlen S c h e i f f a r t h und L e g l e r die sterile Abfüllung des Streptolysins in Erlenmeyerkölbchen oder Reagenzgläser und Überschichtung mit Paraffin oder Vaseline. Die Aufbewahrung erfolgte dann im Kühlschrank bei + 4° C.

Die h a e m o l y t i s c h e W i r k u n g d e s S t r e p t o l y s i n O wurde jeweils mit einer steigenden Verdünnungsreihe des Streptolysins gegen eine 5 %ige Aufschwemmung gewaschener Kaninchenblutkörperchen (K a l b a k) oder eine 2 %ige Hammelblutkörperchenaufschwemmung (S c h e i f f a r t h und L e g l e r , S e i f e r t und T i c h y) getestet. K a l b a k prüfte Streptolysinmengen von 1,0 - 0,0005 ccm, S c h e i f f a r t h und L e g l e r von 1,0 - 0,1 ccm und S e i f e r t und T i c h y von 1,0 - 0,012 ccm. Die Stärke der Haemolyse des Streptolysin O wurde ausgedrückt durch die kleinste haemolysierende Dosis (Minimum hemolysing Dose oder M.H.D.), das ist diejenige Menge Haemolysin, die gerade noch fähig ist, eine Spur Haemolyse auszulösen.

Die von den einzelnen Autoren unterschiedlich angesetzten Verdünnungsreihen des Streptolysins werden in den folgenden Tabellen einander gegenüber gestellt:

T a b e l l e Nr. 1

Verdünnungsreihe nach K a l b a k

(Werte von 1,0 - 0,0005 ccm)

Streptolys. Ausgangs-verdünnung	a.) Unverdünnt				b.) Verdünnung 1:10				c.) Verdünnung 1:100			
Streptolysin	1,0	0,5	0,25	0,125	0,63	0,32	0,16	0,08	0,4	0,2	0,1	0,05
Puffersalz-lösung	1,0	1,5	1,75	1,875	1,37	1,68	1,84	1,92	1,6	1,8	1,9	1,95
5 % Kaninchen-blutkörperchen-Aufschwemmung	0,5	o,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Streptolysin-Menge	1,0	0,5	0,25	0,125	0,063	0,032	0,016	0,008	0,004	0,002	0,001	0,0005

T a b e l l e Nr. 2

Verdünnungsreihe nach S c h e i f f a r t h

und L e g l e r

(Werte von 1,0 - 0,1 ccm)

Streptolysin-Ausgangs-verdünnung	Unverdünnt									
Streptolysin	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
Puffersalz-lösung	1,0	1,1	1,2	1,3	1,4	1,5	1,6	1,7	1,8	1,9
2 % Hammelblut-körperchen-Auf-schwemmung	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Streptolysin-Menge	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1

Tabelle Nr. 3

Verdünnungsreihe nach Seifert und Tichy

(Werte von 1,0 - 0,012)

Streptolysin-Ausgangsverdünnung	Unverdünnt										Verdünnung 1 : 10		
Streptolysinbouillon	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0,5	0,25	0,12
Puffersalzlösung	1,0	1,1	1,2	1,3	1,4	1,5	1,6	1,7	1,8	1,9	1,5	1,75	1,88
2 % Hammelblutkörperchen-Aufschwemmung	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Streptolysin-Menge	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0,05	0,025	0,012

Wie aus den obenstehenden Tabellen hervorgeht, wurden die Streptolysinmengen mit physiologischer NaCl-Lösung oder mit nachstehender Puffersalzlösung auf 2 ccm Gesamtmenge aufgefüllt und anschließend in jedes Röhrchen 0,5 ccm der jeweiligen Blutkörperchenaufschwemmung zugegeben. Die Puffersalzlösung war bei sämtlichen Autoren übereinstimmend folgendermaßen zusammengesetzt:

KH_2PO_4 14,525
$Na_2HPO_4 \cdot 2\,H_2O$ 76,006
NaCl 48,000
Aqua dest. .....ad.. 10.000,000

Die Reaktionsgemische wurden nach dem Auffüllen gut durchgeschüttelt und kamen anschließend für 45 Min. bei 37° C in den Brutschrank oder ins Wasserbad. Der Grad der Haemolyse wurde bei Kalbak nach Zentrifugieren der Röhrchen (2.500 Umdr. pro Min. 1 Min. lang) oder bei Scheiffarth und Legler nach Stehenlassen bei Zimmertemperatur abgelesen, wobei die Farbe der überstehenden Flüssigkeit und die Menge der sedimentierten Erythrozyten berücksichtigt wurden. Nach Kalbak mußte die Menge der sedimentierten Erythrozyten deshalb mit einbezogen werden, weil feine Unterschiede in der Haemolyse der überstehenden Flüssigkeit ohne Photometer kaum zu unterscheiden seien, während die Menge des Sedimentes einen wesentlich

genauer abzulesenden Wert des Haemolysegrades ergäbe, vorausgesetzt daß die Blutkörperchenaufschwemmung unter Einhaltung größter Genauigkeit angesetzt und pipettiert wurde.

Die Grade der Haemolyse wurden nach Kalbak folgendermaßen eingeteilt:

0 = keine Haemolyse
(p) = beginnende Haemolyse
p = partielle Haemolyse
(t) = fast totale Haemolyse
t = totale Haemolyse

Wurde der Stamm S 84 für die Streptolysinbereitung benützt, so fand Kalbak annähernd gleichbleibend den Beginn der Haemolyse bei Streptolysinmengen von 0,004 - 0,002 ccm und die totale Haemolyse bei Werten von 0,063 - 0,032 ccm, wobei Kalbak die Ansicht vertrat, daß für die praktische Anwendung in der Antistreptolysinreaktion das dort verwendete Streptolysin nicht wesentlich schwächer sein soll.

In seinen ersten Untersuchungen verwendete Kalbak das Standardserum von Todd, das ein konzentriertes Pferdeserum ist und pro ccm 20.000 Antistreptolysin-Einheiten (A.S.U. = Anti-Streptolysin-Units) enthält.

Unter 1 A.S.U. verstand Todd diejenige Menge Antistreptolysin, die gerade noch in der Lage ist, 2 ½ M.H.D. zu neutralisieren. Todd definierte eine M.H.D. als diejenige Menge Streptolysin, die für die vollständige Haemolyse von 0,5 ccm einer 5 %igen Aufschwemmung gewaschener Kaninchenblutkörperchen erforderlich ist.

Später verwendete Kalbak menschliches Standard-Serum, sowohl wegen der nur begrenzt zur Verfügung stehenden Mengen von Todd's Originalstandardserum, als auch wegen der qualitativ verschiedenen Reaktionskurven des Antistreptolysins von Menschen- gegenüber Pferdeserum. 0,0809 mgr. des von Kalbak verwendeten getrockneten menschlichen Standardserums entsprechen 1 A.S.U. des Todd'schen Standardserums.

Kalbak berichtete, daß sich das Standardserum sehr gut hielt und Lösungen noch nach 4 Jahren keine Veränderung zeigten. Hierfür war jedoch Bedingung, daß das Standardserum im Kühlschrank bei + 4° C auf-

bewahrt wurde und jeweils nur für kurze Zeit zur Bereitung der Verdünnungen herausgenommen wurde. Bei Aufbewahrung bei Zimmertemperatur ließ die Lösungskraft bereits innerhalb eines Monats nach, während das Standardserum nach T o d d dagegen mehrere Monate lang bei Zimmertemperatur unverändert blieb.

S c h e i f f a r t h und L e g l e r testeten aus einer Anzahl frischer Normalsera (meist von Blutspendern) alle diejenigen heraus, die in ihrem Antistreptolysintiter übereinstimmten, d. h. bei denen eine Hemmung der Haemolyse bis zur gleichen Serumverdünnung vorlag. Die genannten Sera verwendeten sie bei ihren weiteren Untersuchungen als in ihrer geographischen Lage gültige "Normalsera", da nach L a g e r c r a n t z die obere Grenze für den "normalen" Antistreptolysingehalt des Serums z. B. in Schweden höher als in andern Ländern sein soll.

Für die K o n t r o l l e i n s t e l l u n g e i n e s u n b e k a n n t e n S t r e p t o l y s i n s verwendete K a l b a k 5 verschiedene Standardreihen mit variierenden Lysinmengen und wählte als jeweilige Dosis z. B. 0,1, 0,125, 0,16, 0,2 und 0,25 ccm Streptolysin. Die Lösung erfolgte dann nach den als Beispiel in der folgenden Tabelle wiedergegebenen Werten:

T a b e l l e Nr. 4

Streptolysin Dosis (ccm)	Zahl der A.S.U. Einheiten pro Röhrchen in der Verdünnungsreihe							
	1,0	0,8	0,63	0,5	0,4	0,32	0,25	0,2
0,10	0	0	0	0	0	0	0	(p)
0,125	0	0	0	0	0	p	(t)	t
0,16	0	0	0	p	(t)	t	t	t
0,20	0	p	(t)	t	t	t	t	t
0,25	p	p	t	t	t	t	t	t

K a l b a k wählte z. B. 0,16 ccm als "lösende Dosis", da diese Dosis in den Haemolysegraden nach beiden Seiten die größte Variationsbreite zeigte. Dann nahm er einige Kontrolluntersuchungen vor mit Seren, deren Antistreptolysintiter-Werte in sehr verschiedenen Bereichen lagen, und verglich sie mit dem vorher verwendeten Streptolysin. Lagen die Ergebnisse innerhalb der Fehlergrenze, so konnte das neue Streptolysin verwendet werden.

Für praktische Zwecke soll die lösende Dosis des Streptolysin zwischen 0,1 und 0,8 ccm liegen. Bei den im Staten Serum Institute verbreiteten Lysinen lagen die Werte meist zwischen 0,1 und 0,2 ccm. Auf jeden Fall war es erforderlich, die Streptolysindosis gerade so groß zu wählen, daß für die Kontrolleinstellung in jeder Versuchsreihe Röhrchen mit totaler Haemolyse und solche ohne Spur von Haemolyse vorhanden waren.

Vor der B e s t i m m u n g i h r e s A n t i s t r e p t o l y s i n g e h a l t e s mußten sämtliche verwendeten Sera 30 Min. bei 56° C inaktiviert werden.

Das Prinzip war die Bestimmung der Haemolysehemmung durch ein Indikatorsystem, das aus Lysin und einer Blutkörperchenaufschwemmung bestand. Der Grad der Haemolyse (durch die Farbe der überstehenden Flüssigkeit u n d die Menge des Sedimentes ausgedrückt) in einer Anzahl von Röhrchen, die bekannte, gleichbleibende Mengen von Streptolysin und bekannte, unterschiedliche Mengen von Antistreptolysin enthielten, wurde mit einer Verdünnungsreihe des unbekannten Serums verglichen, das die gleiche Menge an Lysin und Blutkörperchenaufschwemmung enthielt, wobei die Reihen mit dem bekannten Antistreptolysingehalt als "Standardreihen" bezeichnet wurden.

Wenn zwei Röhrchen, eines der Standardreihe und eines der Verdünnungsreihe des unbekannten Serums den gleichen Haemolysegrad aufwiesen, so enthielten sie die gleiche Antistreptolysinmenge. Man konnte nun den Antistreptolysingehalt des unbekannten, unverdünnten Serums direkt berechnen, indem man den Antistreptolysingehalt des Kontrollröhrchens mit der Serumverdünnung des anderen Röhrchens multiplizierte.

Es war erforderlich, daß für die Reaktion nur steril entnommene und steril verarbeitete Sera verwendet wurden und die ganze Reaktion unter sterilen Bedingungen ausgeführt wurde.

Für die T i t r a t i o n wurde das P a t i e n t e n s e r u m im Verhältnis 1:50 verdünnt. Die einzelnen Autoren verwendeten jedoch unterschiedlich lange Verdünnungsreihen:

a.) K a l b a k benötigte 6 Röhrchen, (Verdünnungen bis 1:1600), und falls der Titer höher lag, noch eine weitere Reihe von 6 Röhrchen mit stärkeren Verdünnungen, wobei die Ausgangsverdünnung dann 1:200 anstatt 1:50 wie bei der Normalreihe betrug.

b.) S c h e i f f a r t h und L e g l e r verwendeten 11 Röhrchen (Verd.bis 1:51.200), und

c.) S e i f e r t und T i c h y 9 Röhrchen (Verd.bis 1:12.800).

Wurde als Streptolysindosis z. B. 0,2 ccm angenommen, so ergab sich nach dem System von K a l b a k folgende Verdünnungsreihe:

T a b e l l e Nr. 5

Puffersalzlösung	0,8	1,3	1,55	1,68	1,74	1,77	2,0 ccm
Serum-Verdünnung (1:50)	1,0	0,5	0,25	0,12	0,06	0,03	
Streptolysin	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	
Blutkörperchen-aufschwemmung	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	
Serumverdünnung der einzelnen Röhrchen	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1.600	

S c h e i f f a r t h und L e g l e r , wie auch S e i f e r t und T i c h y nahmen die Serumverdünnungen folgendermaßen vor:

In das 1. und 2. Röhrchen der Reihe kamen je 1,0 ccm der Serumverdünnung 1:50, außerdem in Röhrchen 2 bis 11 bzw. 2 bis 9 je 1 ccm Puffersalzlösung oder physiologische NaCl-Lösung. Vom 2. Röhrchen wurde nach Mischen 1,0 ccm in das 3. Röhrchen überpipettiert usw. Dazu kam in jedes Röhrchen das Doppelte derjenigen Streptolysinmenge, die im Vorversuch nach 45 Min. Brutschrankaufenthalt noch vollkommene Haemolyse bewirkt hatte. Anschließend wurde der Inhalt der Röhrchen (Serumverdünnung + Streptolysin) auf ein Gesamtvolumen von 2 ccm mit Puffersalzlösung bzw. physiologischer NaCl-Lösung aufgefüllt und gut durchgeschüttelt.

Zur Bindung von Antistreptolysin und Streptolysin kamen die Röhrchen nach K a l b a k für 15 Min. bei 37° C ins Wasserbad, nach S c h e i f f a r t h und L e g l e r sowie S e i f e r t und T i c h y für 25 Min. in den Brutschrank bei 37° C.

Danach wurden nach übereinstimmenden Angaben der genannten Autoren jedem Röhrchen 0,5 ccm einer 5 %igen Kaninchenblutkörperchenaufschwemmung bzw. einer 2 %igen Hammelblutkörperchenaufschwemmung zugefügt und die Röhrchen nach Umschütteln nochmals für 45 Min. bei 37° C ins Wasserbad (K a l b a k) bzw. in den Brutschrank (S c h e i f f a r t h und L e g l e r , S e i f e r t und T i c h y) gestellt.

Nach Ablauf der Inkubationszeit erfolgte die Ablesung.

Nach der klassischen Methodik wurden die Röhrchen zuerst für 1 Minute bei 2.500/Min. zentrifugiert. Da dies jedoch bei Routineuntersuchungen zu viel Zeit in Anspruch nehmen würde, wurde die Zentrifugation nur noch zur besonders genauen Ablesung in Zweifelsfällen empfohlen. Als Ersatz für die Zentrifugation ließ K a l b a k die Röhrchen vor dem Ablesen für 2 Stunden bei Zimmertemperatur stehen. S c h e i f f a r t h und L e g l e r führten die erste Ablesung nach Ablauf des Brutschrankaufenthaltes durch und protokollierten die Ergebnisse nach den oben angegebenen 5 Haemolysegraden. Zur Kontrolle erfolgte eine 2. Ablesung nach 2 bis 3 stündigem Stehen der Serien bei Zimmertemperatur.

Bei jedem Versuch liefen 2 vorher ausgetestete Normalsera und das Standardserum neben den Patientensera in den gleichen Verdünnungen mit, wobei unter "Standardsera", wie bereits oben angeführt, Verdünnungsreihen mit bekanntem Antistreptolysingehalt zu verstehen sind.

Zur T i t r a t i o n verdünnt K a l b a k die Stammlösung des S t a n d a r d s e r u m s , das 10 A.S.U./ccm enthält, im Verhältnis 1:10.

Wurde als "lösende Dosis" des Streptolysins z. B. wieder 0,2 ccm verwendet, so ergaben sich nach K a l b a k folgende Verdünnungsreihen:

T a b e l l e Nr. 6

Puffersalzlösung	0,8	1,0	1,17	1,3	1,4	1,48	1,55	1,60	2,0 ccm
Standardserum	1,0	0,8	0,63	0,5	0,4	0,32	0,25	0,2	
Streptolysin	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	
Blutkörperchen-aufschwemmung	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	

S c h e i f f a r t h und L e g l e r stellten die Verdünnungen in folgender Weise her:

Sie gaben in das 1. Röhrchen der Reihe 2 A.S.U./ccm Serum, in das 2. Röhrchen die gleiche Menge Standardserum und dazu 1 ccm Verdünnungsflüssigkeit. So entsprach die Vergleichsreihe mit 2 A.S.U./ccm im 1. und 1 A.S.U./ccm im 2. Röhrchen usw. den Serumverdünnungen 1:50, 1:100 usw. eines Serums mit 100 A.S.U./ccm.

Die weitere Verarbeitung des Standardserums erfolgte dann in der gleichen Weise wie die der Patientensera.

M a ß g e b e n d für die B e r e c h n u n g d e s A n t i s t r e p t o l y s i n g e h a l t e s i m S e r u m war der Vergleich der Haemolysegrade der Testreihen mit denen der Standardreihe. Die Ablesung der Haemolysegrade erfolgte dann nach den oben angegebenen 5 Stufen.

Da alle Faktoren der beiden Vergleichsreihen mit Ausnahme des Antistreptolysingehaltes an dem zu untersuchenden Serum bekannt waren, konnte der Antistreptolysintiter (AST) nach K a l b a k folgendermaßen berechnet werden:

Wenn z. B. Röhrchen Nr. 3 des Patientenserums und Röhrchen Nr. 4 des Standardserums den gleichen Haemolysegrad aufwiesen, so enthielten die beiden Röhrchen die gleiche Menge Antistreptolysin, das waren bei der oben angegebenen Verdünnungsreihe z. B. 0,5 A.S.U. pro ccm. Da sich im Röhrchen 3 des Patientenserums die Verdünnung 1/200 ccm fand, enthielt 1 ccm des Patientenserums 100 A.S.U. (0,5 A.S.U. mal 200), d.h. der AST betrug in diesem Falle 100.

Nach S c h e i f f a r t h und L e g l e r wurde die Berechnung des Antistreptolysintiters folgendermaßen durchgeführt:

Es wurde z. B. in der Standardreihe bei der Verdünnung 1:400 mäßige und bei 1:800 vollständige Haemolyse festgestellt und in der Reihe des Patientenserums bei 1:1600 mäßige und bei 1:3200 vollständige Haemolyse. Der Antistreptolysingehalt des Patientenserums war also 4 mal höher als der des Standardserums. Das Standardserum enthielt 100 A.S.U./ccm, also betrug der Antistreptolysingehalt des Patientenserums das 4 fache = 400 A.S.U./ccm. Falls die Haemolysegrade nicht so übereinstimmten wie in dem gewählten Beispiel, setzten S c h e i f -

farth und Legler vor die Zahl der A.S.U. die Abkürzung "ca.".

Wurde ein menschliches Standardserum verwendet, das genau nach dem Standardserum von Todd eingestellt war und das bei wöchentlichen Kontrolltesten konstant blieb, so mußten bei der Auswertung dennoch die möglichen technischen und biologischen Fehlerquellen der Antistreptolysinreaktion berücksichtigt werden. Zu ihnen gehörten Ungenauigkeiten beim Pipettieren, die besonders bei der Verdünnung des Serums und bei der Zugabe der als Indikator dienenden Blutkörperchenaufschwemmung das Endergebnis beeinflussen können, sowie Differenzen beim Ablesen der Haemolysegrade infolge der großen Schwankungsbreite, die von einem Tag zum anderen ± 20 % betragen kann. Da außerdem Titerschwankungen auch bei Gesunden auftreten können, war ein einmaliger hoher Titer nicht beweisend.
Weitere wichtige Fehlerquellen waren auch abnorme Reaktionen, z. B. bei verunreinigten Sera, die angeblich enzymatische Effekte mit Veränderung der Serumeiweißkörper hervorriefen (Hewitt und Todd; Löfgren, Scheifarth und Legler). In den meisten Fällen handelte es sich um Bacterium subtilis und Pseudomonas fluorescens und Bacterium pyocyaneum. In solchen Fällen stieg der Titer innerhalb weniger Tage von normalen Werten auf mehrere Tausend A.S.U. Hierbei trat eine Hemmung der Haemolyse im Indikatorsystem auf, die Hewitt und Todd z. T. auf eine Zunahme des Cholesterolgehaltes im Serum zurückführten und die durch die Infektion mit den obengenannten Keimen hervorgerufen werden soll. Ebenso fanden sich abnorme Reaktionen bei ikterischen Sera, bei denen nach Kalbak eine Hemmung der Haemolyse mit flacher Haemolysekurve auftrat. Hier war wieder die Möglichkeit einer zunehmenden Anhäufung von Cholesterol oder anderen abnormen Serumeiweißkörpern gegeben (Kalbak).
Auch Sera von Nephrosepatienten zeigten in den meisten Fällen eine charakteristische niedrige Haemolysekurve. Hier handelte es sich nach Kalbak um eine Cholesterolwirkung, da Cholesterol bei diesen Patienten in großer Menge vorhanden ist. Von Wichtigkeit für die Antistreptolysinreaktion war auch die Abwehrlage des Patienten. So konnten nach Rendall und Rantz sowie Seifert und Tichy bei Hyperergie unverhältnismäßig hohe Antistreptolysintiter auftreten,

während bei H y p e r g i e durch zu träge Antistreptolysinbildung ein zu niedriger Titer auftrat. Diese Extreme der Abwehrlage waren jedoch verhältnismäßig selten und beeinträchtigten daher den Wert der Reaktion nur in geringem Maße.
Eine indirekte Beeinflussung der ASR konnte auch durch Behandlung des Patienten mit bestimmten M e d i k a m e n t e n hervorgerufen werden. So wurde z. B. bei frühzeitig einsetzender Penicillinbehandlung durch Ausschaltung des Erregers die Antikörperproduktion sehr bald im Körper eingestellt. Daher traten bei diesen Patienten Werte auf, die in keinem Verhältnis zum Ausmaß der Infektion standen. (K i l b o u r n e und L o g e ; S c h e i f f a r t h und L e g l e r). Außerdem sollen auch ACTH und Cortison die Antikörperproduktion hemmen (C a r l i s l e ; S c h e i f f a r t h und L e g l e r).
Bei der ASR traten auch Fehlergebnisse auf, wenn die L a t e n z z e i t f ü r d i e A n t i k ö r p e r p r o d u k t i o n , die bekanntlich auch bei anderen Seroreaktionen auftritt, nicht berücksichtigt wurde. Bei einer akuten Infektion ist nicht gleich ein hoher AST zu erwarten. Z. B. stieg bei Streptokokken der AST nach K a l b a k erst nach 1 - 3 Wochen an. Es war deshalb zweckmäßig, in gewissen Zeitabständen (etwa 8 - 14 Tage) wiederholte Messungen des AST durchzuführen. Bei einer frischen Infektion zeigte der Titer nach Ablauf der Latenzzeit ansteigende Tendenz, bei Besserung bzw. Ausheilung der Infektion fielen die Werte, da die gebildeten Antikörper nicht so rasch ausgeschieden wurden, nach einiger Zeit zur Norm ab. Blieb dagegen der Titer konstant erhöht, so dauerte die Infektion bzw. Antikörperproduktion noch an.
Für die klinische Bedeutung der Reaktion mußte berücksichtigt werden, daß der AST auch bei F o k a l i n f e k t i o n e n erhöht sein kann, die als Sekundär - Krankheit neben der "Hauptkrankheit" auftreten können, ohne direkt in ursächlichem Zusammenhang mit dieser "Hauptkrankheit" zu stehen. Daher konnten die Ergebnisse der ASR, wie bei allen Seroreaktionen, nur bei genauer Kenntnis des klinischen Zusammenhangs voll ausgewertet werden.

Die Ergebnisse der Antistreptolysinreaktion bei den anderen Untersuchern.

Nahezu jeder Mensch macht in seinem Leben früher oder später eine Infektion mit haemolytischen Streptokokken durch. Im menschlichen Serum findet sich daher fast immer Antistreptolysin. Eine Anzahl Untersucher befassten sich damit, die Antistreptolysintiter- Verteilung in

bestimmten Bevölkerungsgruppen zu ermitteln und daraus den sogenannten "normalen Antistreptolysintiter" zu bestimmen. Die bisher vorliegenden Zahlenangaben wurden in nachstehender Tabelle zusammengefaßt:

T a b e l l e Nr. 7

Untersucher	Land, in dem die Untersuchungen durchgeführt wurden	Titer (A.S.U.)		
		bis 100	bis 200	über 200
Kalbak	Dänemark	63 %	25 %	12 %
	Holland	67 %	23 %	10 %
Schøne und Steen	Schweden	95 %		5 %
Winblad	Schweden	80 %	-	20 %
Lagercrantz	Schweden	84 %		16 %
Schultze, Schwick, Vasters	Deutschland	77,6 %		22,4 %
Christ	Deutschland	82,8 %		17,2 %
Gordon u. Balteanu	Rumänien	100 %	-	vereinzelt
Faber	Spanien	84 %		16 %
Movales-Otero, und Pomales-Lebron	Puerto Rico	100 %		-
Shugihara	Japan	100 %		-

Um die Ergebnisse der einzelnen Länder miteinander vergleichen zu können, sollen nach K a l b a k die Altersverteilung der Bevölkerung, der allgemeine hygienische Standard, die Ernährungs- sowie die sozialen Verhältnisse (z. B. Wohnungsverhältnisse), die Häufigkeit der Erkältungskrankheiten und vor allem das Klima der einzelnen Länder berücksichtigt werden. K a l b a k stellte z. B. bei seinen Untersuchungen fest, daß etwa 16 % der Personen von 0 bis 20 Jahren einen erhöhten AST zeigten; in dem Abschnitt zwischen 6 und 15 Jahren, dem schulpflichtigen Alter, in dem "Febris rheumatica" am häufigsten auftritt, betrug die Anzahl der erhöhten AST-Werte sogar 27 %. C o -

burn und Pauli berichteten über die geographische Verteilung des AST in Nordamerika zwischen dem 18. und 46. Breitengrad, daß die AST-Werte im allgemeinen südlich des 35. Breitengrades niedriger seien als nördlich des 40. Breitengrades. Sie nahmen daher an, daß der Normaltiter der ASR mit der geographischen Breite zunehme. Auch sollen Streptokokkenkrankheiten in tropischen Gebieten wesentlich seltener sein als in der gemäßigten und in der kalten Zone.

Im allgemeinen gelten für unsere Breiten Werte über 200 A.S.U. pro ccm Serum als pathologisch. Von diesem Wert ausgehend wurden in Tabelle Nr. 8 (s. S. 21) die Ergebnisse der Untersucher bei verschiedenen Allgemeinkrankheiten und in Tabelle Nr. 9 (s. S. 22) bei verschiedenen Hautkrankheiten zusammengestellt.

Darin bedeuten:

+ = pathologische Antistreptolysintiter
Ø = normale Antistreptolysintiter und
- = bisher nicht ermittelte Antistreptolysintiter

Die Technik der Antistreptolysinreaktion bei den eigenen Untersuchungen

Den eigenen Untersuchungen wurde die oben beschriebene Technik von Kalbak, von Scheiffarth und Legler, sowie von Seifert und Tichy zu Grunde gelegt. Vergleichende Vorversuche führten jedoch zu einigen Modifikationen, deren Einzelheiten im Folgenden wiedergegeben sind.

I. Die Zubereitung der Streptolysinbouillon.

Wie oben bereits erwähnt, war es erforderlich, einen Streptokokkenstamm mit kräftiger Streptolysinbildung zu verwenden. Die eigenen Untersuchungen wurden daher mit einem Ableger des Stammes S 84 durchgeführt*), der nach den Veröffentlichungen von Kalbak eine besonders starke Streptolysinbildung aufweisen soll.

Für die Züchtung der Streptokokkenkulturen wurden 5 %ige Hammel-

*) Für die freundliche Überlassung dieses Stammes sei Herrn Oberarzt Dr. med. Legler, Staatl.Bakteriolog.Untersuchungsanstalt Erlangen (Direktor: Prof. Dr. med. Adolf Seiser), an dieser Stelle nochmals gedankt.

Tabelle Nr. 8

	akute ß-hämolyt. Streptokokkenkrankheiten; Tonsillitis; Scharlach (+ Erysipel)	akute Polyarthritis	prim. chron. Polyarthritis	sec. chron. Polyarthritis	Morbus Bechterew	isolierte Schulter- und Hüftgelenkskrankheiten Ischias	Periarthritis und Tendinitis mit Fokalinfektion	Endocarditis rheumatica Endocarditis lenta	akute diffuse und chron. Glom. Nephritis
Kalbak	+	+	-	+	-	-	-	-	-
Coburn und Pauli	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Winblad und Mitarbeiter	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Thulin	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Movales-Otero, Pomales-Lebron	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Mc. Carthy	-	+	-	-	+	-	-	+	-
Anderson u. Mitarbeiter	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Böni	-	-	Ø	-	-	-	-	-	-
Porsmann	-	-	Ø	-	-	-	-	-	-
Browning u. Mitarbeiter	-	+	Ø	-	-	-	-	Ø	-
Kerr	-	-	-	-	-	-	-	Ø	-
Scheiffarth u. Legler	+	+	Ø+	+	+	-	+	Ø	+
Christ	+	+	-	-	+	-	-	+	+
Köhler	+	+	+	+	-	-	-	+	+
Seifert und Tichy	-	+	Ø	+	+	Ø	-	-	-
Rantz u. Mitarbeiter	-	+	-	-	+	-	-	+	+
Hamburger u. Mitarbeiter	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Seegale und Little	-	-	-	-	-	-	-	-	+

Tabelle Nr. 9

	Norrlind	Sonck u. Widholm	Nørholm-Pedersen	Scheiffarth u. Legler	Köhler	Denecke
Psoriasis guttata vulgaris	+	+	+	-	-	-
Acne conglobata	-	+	-	-	-	-
Prurigo Besnier	-	+	-	-	-	-
Urticaria	-	+	-	-	-	-
Lupus erythematodes diss.subacut.chron.	-	+	-	+	-	+ Ø
Lupus erythematodes acutus	-	+	-	-	-	+
Acrodermatitis atroph.	-	+	-	-	-	-
Pityriasis rosea	-	+	-	-	-	-
Lichen ruber planus	-	+	-	-	-	-
Herpes Zoster	-	+	-	-	-	-
Erythema nodosum	-	-	-	+	-	-
Erysipel	-	-	-	+	+	-
Venerische Krankheiten z. B. Lues	-	-	Ø	Ø	-	-
Actinomycose	-	-	-	Ø	-	-

blutagarplatten verwendet und 2 mal wöchentlich überimpft. Die Kulturen kamen jeweils für 24 Stunden in den Brutschrank bei + 37° C und wurden anschließend im Eisschrank bei + 4° C aufbewahrt. Die Reinheit der Kulturen wurde immer wieder durch Objektträgerpräparate geprüft. Vor Herstellung der Streptolysinbouillon wurden an zwei aufeinanderfolgenden Tagen die Kulturen auf 0,1 %ige Traubenzuckerbouillon und anschließend nochmals auf Hammelblutagarplatten überimpft. Der Stamm wurde hierdurch aktiviert und seine Streptolysin O - Bildung gesteigert.

Die R i n d e r h e r z b o u i l l o n wurde auf folgende Weise hergestellt:

Zu 500 g fett- und sehnenfreiem, fein gemahlenen Rinderherz wurde 1 Liter Aqua dest. zugefügt. Die Mischung wurde dann für 12 Stunden in den Eisschrank gestellt und anschließend 10 Minuten gekocht. Danach wurde das Fleisch leicht ausgepreßt und das Expressat zuerst durch Watte und anschließend durch Filterpapier filtriert. Das Filtrat wurde mit 20 g Pepton Witte pro Liter versetzt und mit 5n NaOH auf pH 8 eingestellt. Anschließend wurde zuerst durch Filterpapier, dann durch ein Berkefeldfilter Nr. N 11 filtriert und die Bouillon im Kühlschrank bei + 4° C aufbewahrt. Wurde die Bouillon erst nach einiger Zeit verwendet, so mußte der pH-Wert überprüft, gegebenenfalls wieder auf 8 eingestellt und anschließend nochmals durch Filterpapier und ein Berkefeldfilter Nr. N 11 filtriert werden.

Zu jedem Liter Rinderherzbouillon wurden vor Beimpfung 40 ccm einer S a l z l ö s u n g zugegeben, die folgende Zusammensetzung aufwies:

Glukose	5,0
$NaHCO_3$	5,0
NaCl	5,0
$Na_2HPO_4 \cdot 12\ H_2O$	2,5
Aqua dest.	100,0

Diese Salzlösung mußte stets frisch zubereitet und ebenfalls vor Gebrauch durch ein Berkefeldfilter Nr. N 11 filtriert werden.

Nach Zugabe der Salzlösung zur Rinderherzbouillon, die vorher zur Erwärmung eine Stunde bei Zimmertemperatur stand, wurde jeweils ein Liter Bouillon mit 10 ccm der sogenannten "V o r k u l t u r" beimpft. Die Vorkultur bestand bei der ASR aus 1 %iger Traubenzuckerbouillon, die mit dem Streptokokkenstamm S 84 beimpft und 6 Stunden bei + 37° C

bebrütet worden war. Auch die Reinheit der Vorkultur wurde durch mikroskopische Untersuchung eines Objektträgerpräparates geprüft. Anschliessend kam die beimpfte Bouillon für 16 Stunden bei + 37° C in den Brutschrank.

Nach dieser 16 stündigen Bebrütung wurde die Reinheit der Streptolysinbouillon durch Objektträgerpräparate kontrolliert. Nur bei unklaren Befunden wurde eine Aussaat auf Blutagarplatten vorgenommen und nach 24 stündiger Bebrütung bakteriologisch differenziert.

Wenn eine Streptokokkenreinkultur vorhanden war, so wurde die Bouillonkultur zentrifugiert (4000 Umdr./Min. für 20 Min.), um die gröberen Bestandteile zu entfernen. Anschließend wurde die überstehende Flüssigkeit durch ein Berkefeldfilter Nr. N 11 filtriert.

Reduktion und Evakuierung der Streptolysinbouillon.

Die Aufbewahrung der Streptolysinbouillon erfolgte in einer luftdicht verschließbaren Flasche von 500 ccm Inhalt (nach G r e g o r c z y k) wie sie in Abbildung Nr. 1 wiedergegeben ist, bei der die Zuführung des Gasgemisches über einen verlängerten Glasansatz durch die Bouillon hindurch erfolgte, während die Evakuierung nach Umstellung des Zwei-Wege-Hahns über den kürzeren Glasansatz durchgeführt wurde. Dadurch wurde nicht nur eine ausreichende Evakuierung, sondern gleichzeitig eine Verdrängung von O_2-Resten aus der Bouillon durch das Gasgemisch selbst angestrebt. Die letzte Berkefeldfiltration erfolgte bereits in diese Flasche. Die Reduktion wurde durch Zusatz von 0,1 % $Na_2S_2O_2$ (Natriumhydrosulfit) und 1 % 1n NaOH durchgeführt.

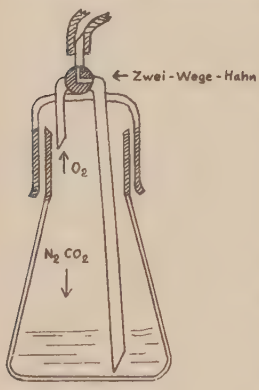

Abbildung 1

Methodik der Evakuierung und Wiederfüllung.

Während die zuvor angeführten Autoren (K a l b a k ; S c h e i f f a r t h und L e g l e r ; S e i f e r t und T i c h y) die Evakuierung mit einem Anaerobentopf durchführten, wurde bei den eigenen Untersuchungen ein Evakuierungs- und Füllungssystem (G r e i f e l t , G r e g o r c z y k und D o e p f m e r) verwendet, dessen Anordnung aus der folgenden Abbildung (s. S. 25) hervorgeht.

Das für dieses Evakuierungs- und Füllungssystem benötigte Spezialgemisch bestand aus 5 % CO_2 und 95 % N_2 und wurde in Stahlflaschen

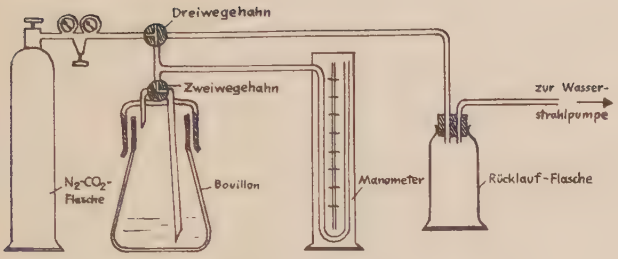

Abbildung 2

handelsmäßig bezogen. Um die Evakuierung und Wiederfüllung in einem Arbeitsgang durchführen zu können, wurden die Gasquelle und eine leistungsfähige Wasserstrahlpumpe unter Einschaltung eines Manometers durch ein Schlauchsystem über einen Dreiwegehahn miteinander verbunden. Es wurde eine dreimalige Evakuierung und Wiederfüllung durchgeführt. Während die Evakuierung im Anaerobentopf etwa 2 Stunden in Anspruch nimmt, waren für die angegebene Technik nur etwa 5 bis 10 Minuten erforderlich.

II. Die Bestimmung der Haemolysewirkung des Streptolysins. "Vorversuch"

Die Haemolysekraft des Streptolysins wurde durch die M.H.D. (Minimum Hemolyzing Dose) ausgedrückt, worunter hier die kleinste Menge Streptolysin verstanden wurde, die noch fähig war, eine Spur Haemolyse hervorzurufen.
Die haemolytische Wirkung wurde mit steigenden Verdünnungen des Streptolysins gegen eine 2 %ige Aufschwemmung gewaschener Hammelblutkörperchen getestet, wobei Streptolysinverdünnungen von 1,0-0,012 ccm verwendet wurden. Die Verdünnungen wurden nach dem in der folgenden Tabelle wiedergegebenen Schema hergestellt:

Tabelle Nr. 10

Streptolysin-Ausgangsverdünnung	Unverdünnt										Verdünnung 1 : 10		
Streptolysin-bouillon	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0,5	0,25	0,12
physiolog. NaCl-Lösung	1,0	1,1	1,2	1,3	1,4	1,5	1,6	1,7	1,8	1,9	1,5	1,75	1,88
2 % Hammel-Erythrocyten-Aufschwemmung	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Streptolysin-Menge	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0,05	0,025	0,012

Die Streptolysinmengen wurden, wie aus der Tabelle hervorgeht, mit physiolog. NaCl-Lösung auf 2 ccm Gesamtmenge aufgefüllt und anschließend in jedes Röhrchen 0,5 ccm der 2 %igen Hammelerythrocytenaufschwemmung zugegeben. Für jeden Versuch mußte die 2 %ige Hammelblutkörperchenaufschwemmung frisch zubereitet werden. Es wurde dafür defibriniertes, 4 mal in physiologischer NaCl-Lösung gewaschenes, nicht zu altes Hammelblut verwendet. Die 2 %ige Aufschwemmung wurde ebenfalls mit physiologischer NaCl-Lösung hergestellt.

Nach Zugabe der physiologischen NaCl-Lösung und der Blutkörperchenaufschwemmung wurde der Inhalt der Röhrchen gut durchgemischt. Die Reaktionsgemische kamen dann für 45 Min. bei + 37° C in den Brutschrank bzw. ins Wasserbad. Anschließend wurde der Grad der Haemolyse nach Zentrifugieren der Röhrchen (2.500 Umdr./Min. 1 Min. lang) abgelesen. Hierbei wurde die Menge der sedimentierten Erythrocyten u n d die Farbe der überstehenden Flüssigkeit berücksichtigt. Die Ergebnisse wurden entsprechend den von K a l b a k angegebenen Haemolysegraden folgendermaßen ausgedrückt:

0 = keine Haemolyse
(p) = beginnende Haemolyse
p = partielle Haemolyse
(t) = fast totale Haemolyse
t = totale Haemolyse

Für die Bestimmung des Antistreptolysingehaltes im Serum wurde wie bei S c h e i f f a r t h und L e g l e r das Doppelte derjenigen Menge an Streptolysin verwendet, die im oben beschriebenen Vorversuch nach

45 Min. Brutschrankaufenthalt gerade noch totale Haemolyse bewirkte.

III. Das Standardserum.

Für die eigenen Versuche wurde das z. Zt. auch in den skandinavischen Ländern benützte "Human Standard-Serum" verwendet.*) 0,0809 mgr dehydrierten Human Standard-Serums entsprechen einer A. S. U. (Anti-Streptolysin-Unit) des Standardserums nach Todd. Das Human Standard-Serum wurde von Serum Institute Kopenhagen in flüssiger Form geliefert und enthielt 10 A.S.U. pro ccm. Aus den Sera gesunder Personen wurden mit Hilfe des Kopenhagener Standardserums diejenigen Sera herausgetestet, die einen AST von ca. 100 bei mehreren Untersuchungen aufwiesen. Diese Sera liefen bei den Untersuchungen der Patientensera neben dem Standardserum nach Kalbak als Vergleichssera mit.

IV. Die Bestimmung des Antistreptolysingehaltes im Serum.

"Hauptversuch"

Alle zur Verwendung kommenden Sera wurden zunächst 30 Min. bei + 56° C inaktiviert.
Für die Reaktion durften nur steril entnommene Sera verwendet werden, wie auch für die gesamte AST-Bestimmung die Einhaltung steriler Arbeitsbedingungen erforderlich war.

Vor der Titration wurde das inaktivierte Patientenserum zunächst im Verhältnis 1:50 verdünnt.
Für die Verdünnungsreihen wurden dann 10 fortlaufende Verdünnungen von 1 : 50 bis 1 : 25 600 hergestellt, die meist für die Titerbestimmung ausreichten und dann in gleicher Weise wie in der folgenden Tabelle pipettiert (s. Tabelle Nr. 11 S. 28).

Nach Überpipettieren der Serumverdünnung und Zugabe der Streptolysinbouillon wurden die Röhrchen mit physiologischer NaCl-Lösung auf 2 ccm aufgefüllt und die Reaktionsgemische erneut gut gemischt. Anschließend kamen die Röhrchen zur Bindung von Streptolysin und Antistreptolysin für 25 Min. bei + 37° C in den Brutschrank oder ins Wasserbad. Nach Ablauf dieser Zeit wurden jedem Röhrchen 0,5 ccm einer frisch zubereiteten 2 %igen Hammelblutkörperchenaufschwemmung zugege-

*) Das Standardserum wurde freundlicherweise vom Staten Serum Institute Kopenhagen zur Verfügung gestellt, wofür an dieser Stelle nochmals verbindlichst gedankt sei.

Tabelle Nr. 11

physiolog.NaCl-Lösung		1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Serumverdünnung 1:50 (überpipettiert)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Streptolysin-bouillon	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
physiolog.NaCl-Lösung	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
Titer 1 :	50	100	200	400	800	1.600	3.200	6.400	12.800	25.600

ben. Die Röhrchen wurden wieder gut durchgemischt und nochmals für 45 Min. bei + 37° C in den Brutschrank oder ins Wasserbad gestellt. Nach Ablauf des Brutschrank- oder Wasserbadaufenthaltes wurde eine vorläufige Bestimmung der Haemolysegrade vorgenommen und protokolliert. Die endgültige Ablesung erfolgte erst, nachdem die Röhrchen 2 bis 3 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden waren.
Traten dann noch Unklarheiten bei der Ablesung auf, so wurden die Röhrchen zentrifugiert (2.500 Umdr./Min. 1 Min. lang) und dann nochmals der Haemolysegrad abgelesen.

Das Standardserum nach Kalbak enthält 10 A.S.U./ccm. Für die Titration wurde zunächst eine Ausgangsverdünnung von 1 : 5 (anstatt der sonst üblichen Serumverdünnung 1 : 50) hergestellt und davon in die beiden ersten Röhrchen der Verdünnungsreihe je 1 ccm pipettiert. Die übrige Titration erfolgte dann wie bei den Patientensera (s. Tabelle Nr. 11). Die beiden getesteten Normalsera, die als Vergleichssera mitliefen, wurden wie die Patientensera verdünnt.

V. Die Ablesung und Berechnung des Antistreptolysingehaltes im Serum.

Die Ablesung erfolgte nach den oben angegebenen 5 Haemolysegraden. Maßgeblich für die Berechnung des Antistreptolysingehaltes im Serum war der Vergleich der Haemolysegrade der Standardreihe mit den Werten der zu testenden Sera.

Wurde angenommen, daß

T = Anti-Streptolysin-Titer des Patientenserums,
A = Anti-Streptolysin-Gehalt des Standardserums in A.S.U.
V_1 = Verdünnung des Standardserums mit totaler Haemolyse, und
V_2 = Verdünnung des Patientenserums mit totaler Haemolyse
sind, so ergab sich für die AST-Berechnung folgende Formel:

$$T = \frac{A \cdot V_2}{V_1}$$

War z. B. A = 100
V_1 = 400
V_2 = 1.600 so war $T = \frac{100 \cdot 1.600}{400} = 400,$

d.h. das betreffende Patientenserum enthielt demnach 400 A.S.U./ccm.

Die möglichen F e h l e r q u e l l e n der Antistreptolysinreaktion wurden in dem vorhergehenden Kapitel über die Technik der anderen Autoren ausführlich behandelt. Es sei jedoch nochmals darauf hingewiesen, daß vor allem Ungenauigkeiten beim Pipettieren, Verwendung von verunreinigten oder ikterischen Sera und von Sera nach vorangegangener Antibiotica-Behandlung zu vermeiden sind. Außerdem sind Differenzen beim Ablesen, die Latenzzeit der Antikörperproduktion, die Abwehrlage des Patienten und eventuell vorhandene Fokalinfektionen zu berücksichtigen.

Die eigene Technik der Antistreptolysinreaktion mit dem Trocken-Streptolysin O der Behringwerke.

Das Streptolysin O - Reagenz der Behringwerke*) ist ein hochgereinigtes Streptolysin O in Trockenform, das für den Test durch Natriumthioglykolat aktiviert wird. Es enthält bei Auswertung mit dem Antistreptolysin O - Standardserum des Staten Serum Institute Kopenhagen 200 Einheiten Streptolysin O pro Fläschchen. Als Trockenprodukt soll Streptolysin O (Behringwerke) angeblich unbegrenzt haltbar, und in wässriger, nicht reduzierter Lösung bei Kühllagerung (+ 4° C) mindestens 1 Woche stabil sein.

*) Von den Behringwerken wurden freundlicherweise Versuchsmengen von Streptolysin O in Trockenform zur Verfügung gestellt, wofür an dieser Stelle nochmals gedankt wird.

Die Untersuchungen wurden nach der von S c h u l t z e , S c h w i c k und V a s t e r s beschriebenen Technik durchgeführt. Benötigt wurden hierfür folgende Ausgangssubstanzen:

1.) NaCl-Lösung, 0,85 %ig

2.) Puffer-Salzlösung von folgender Zusammensetzung:

KH_2PO_4	1,4525
$Na_2HPO_4 \cdot 2\ H_2O$	7,6006
NaCl	4,8000
Aqua dest. .....ad	1.000,0000

3.) Natriumthioglykolat, 5 mol.

2 Ampullen Natriumthioglykolat sind einem Fläschchen mit Streptolysin O (Behringwerke) beigefügt. Die Ampullen enthalten je 2,5 ccm Natriumthioglykolat und sind nach dem Öffnen bald zu verbrauchen.

4.) Streptolysin O (Behringwerke).

Der Inhalt eines Fläschchens mit 200 Einheiten Streptolysin O (Behringwerke) wurde in 5 ccm 0,85 %iger NaCl-Lösung aufgelöst. Von dieser Stammlösung wurde eine Verdünnung im Verhältnis 1:5 auf folgende Weise hergestellt:

1 ccm Streptolysin O,
3 ccm physiologische NaCl-Lösung und
1 ccm Natriumthioglykolat.

Die Lösung wurde gut durchgemischt und 10 Min. bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Diese reduzierte Streptolysinlösung konnte dann für den Test verwendet werden. Die inaktive Stammlösung konnte einige Tage im Kühlschrank bei + 4° C aufbewahrt werden, ohne in ihrer Wirksamkeit beeinträchtigt zu werden, während die mit Thioglykolat aktivierte Streptolysin-Lösung sofort nach der Herstellung verbraucht werden mußte

5.) 5 %ige Kaninchenblutkörperchenaufschwemmung.

Das Kaninchenblut wurde durch Herzpunktion gewonnen, und sofort nach Entnahme durch Schütteln mit Glasperlen defibriniert. Nach 3 - 4 maligem Waschen mit physiologischer NaCl-Lösung wurde aus den gewaschenen Blutkörperchen eine 5 %ige Aufschwemmung mit der angegebenen Puffer-Salzlösung hergestellt, die vor jedem Versuch frisch zubereitet werden mußte.

(An Stelle der 5 %igen Kaninchenblutaufschwemmung konnte auch eine 2 %ige Suspension von Hammel-Erythrocyten verwendet werden.)

" V o r v e r s u c h "

In nachstehender Tabelle sind die zu pipettierenden Mengen der einzelnen Lösungen wiedergegeben:

T a b e l l e Nr. 12

Röhrchen Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Reduzierte Streptolysin-Lösung	0,5	0,45	0,4	0,35	0,3	0,25	0,2	0,15	0,1	0,05
NaCl-Lösung 0,85 %	-	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4	0,45
Puffersalzlösung	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
5 % Kaninchenblut-aufschwemmung	0,25	0,25	0,25	025	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25

Die angesetzten Reaktionsgemische wurden nach dem Pipettieren gut durchgemischt und kamen anschließend für 45 Min. in den Brutschrank oder ins Wasserbad (von + 37° C). Dann erfolgte die Ablesung der Haemolysegrade.

" H a u p t v e r s u c h ".

Sämtliche Sera wurden zunächst 30 Min. bei + 56° C inaktiviert und anschließend im Verhältnis 1 : 50 verdünnt. Zur Durchführung des Hauptversuchs wurden dann die einzelnen Lösungen wie folgt pipettiert:

T a b e l l e Nr. 13

Röhrchen Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Puffersalzlösung	-	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Serumverd. 1:50 (überpipettieren)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Streptolysinbouillon (doppelte Menge der lösenden Dosis)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
NaCl 0,85 % auf 1 ccm auffüllen	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Verdünnung 1 :	50	100	200	400	800	1.600	3.200	6.400	12.800	25.600

Die nach dem vorangehenden Schema angesetzten Reaktionsgemische kamen zunächst für 25 Min. bei + 37° C in den Brutschrank bzw. ins Wasserbad. Anschließend wurde jedem Röhrchen 0,25 ccm einer 5 %igen Kaninchenblutaufschwemmung (bzw. 0,25 ccm einer 2 %igen Hammelblutkörperchenaufschwemmung) zugefügt, die Röhrchen gut durchgeschüttelt und für 45 Min. bei + 37° C in den Brutschrank bzw. ins Wasserbad gestellt. Danach wurde die Haemolyse nach den im vorhergehenden Kapitel beschriebenen Haemolysegraden bestimmt, die die folgende Einteilung aufwiesen:

0 = keine Haemolyse
(p) = beginnende Haemolyse
p = partielle Haemolyse
(t) = fast totale Haemolyse
t = totale Haemolyse

Die Haemolysegrade der zu prüfenden Sera wurden mit dem Standardserum verglichen und daraus der entsprechende Titer ermittelt. (Vgl. Berechnung des AST im vorhergehenden Kapitel).
Für die Versuche wurde das Standardserum des Staten Serum Institute Kopenhagen verwendet.

Bei den vergleichenden Untersuchungen zwischen der selbst hergestellten Streptolysinbouillon und dem Streptolysin O - Reagenz der Behringwerke zeigten sich keine wesentlichen Differenzen der AST-Werte. Wie aus der Beschreibung der Technik ersehen werden kann, bedeutet die Verwendung des Trocken-Antigens jedoch eine wesentliche Vereinfachung gegenüber der zeitraubenden und technisch schwierigen Herstellung der Streptolysinbouillon. Das Streptolysin O in Trockenform wäre daher sowohl für umfangreiche Routine-Untersuchungen wie auch für eventuell sofort durchzuführende Einzeluntersuchungen besonders geeignet, da es in gebrauchsfertigen Portionen ohne Beeinträchtigung seiner Wirksamkeit jederzeit zur Verfügung gehalten werden kann.

Die Ergebnisse der Antistreptolysinreaktion bei den eigenen Untersuchungen.

In 210 Einzeluntersuchungen wurden bei einer Reihe von Hautkrankheiten nachstehende AST-Werte ermittelt:

Tabelle Nr. 14

Krankheit	Zahl der Einzel-unters.	Titer ca. 100	ca. 200	ca. 400	ca. 800	ca. 1.600
Gesunde	64	41	17	5	-	1
Lupus erythematodes chron.	45	28	6	8	2	1
Acrodermatitis chron.atroph.	44	17	11	11	3	2
Psoriasis vulgaris	18	13	3	2	-	-
Erythema nodosum	5	4	-	1	-	-
Erysipel	4	1	-	1	2	-
Pemphigus chron.vulg.	5	3	-	1	1	-
Dermatitis herp. Duhring	3	-	2	1	-	-
Erythema anulare	2	1	-	-	1	-
Chron.recid.Urticaria	2	-	2	-	-	-
Pyodermien	2	2	-	-	-	-
Psoriatische Erythrodermie	1	1	-	-	-	-
Erythema exsudativum multiforme	4	4	-	-	-	-
Seborrhoisch-mikrobisches Ekzem	8	6	2	-	-	-
Mycosis fungoides	1	1	-	-	-	-
Progressive Sklerodermie	1	-	1	-	-	-
Circumscripte Sklerodermie	1	1	-	-	-	-

Werden auf Grund der für Mitteleuropa festgestellten Durchschnittswerte die AST-Werte über 200 A.S.U. als erhöht betrachtet, so verteilen sich die eigenen Untersuchungsergebnisse folgendermaßen:

Tabelle Nr. 15

Krankheit	Titer	
	normal	erhöht
Gesunde (Vergleichssera)	++	+
Lupus erythematodes chron.	++	+
Acrodermatitits chron.atroph.	++	+
Psoriasis vulgaris	++	+
Erythema nodosum	++	+
Erysipel	+	++
Pemphigus chron.vulg.	+	+
Dermatitis herp. Duhring	+	+
Erythema anulare	+	+
Chron.recid.Urticaria	+	-
Pyodermien	+	-
Psoriatische Erythrodermie	+	-
Erythema exsudativum multiforme	+	-
Seborrhoisch-mikrobisches Ekzem	+	-
Mycosis fungoides	+	-
Progessive Sklerodermie	+	-
Circumscripte Sklerodermie	+	-

\+ = festgestellte AST-Werte
++ = überwiegende Zahl der AST-Werte
\- = nicht aufgetretene AST-Werte

Diskussion.

Nach den Untersuchungsergebnissen anderer Autoren bei Gesunden und den eigenen Ergebnissen dürften Werte über 200 A.S.U. für unsere Gegend als erhöht betrachtet werden. Wie aus den Tabellen Nr. 14 und 15 hervorgeht, wären demnach die AST-Werte bei chron. rezid. Urticaria, Pyodermien, Psoriatischer Erythrodermie, Erythema exsudativum multiforme, seborrhoisch-mikrobischem Ekzem, Mycosis fungoides, progressiver und circumscripter Sklerodermie als "normal" anzusehen.

Bei "Gesunden", Lupus erythematodes chronicus, Acrodermatitis chronica atrophicans, Psoriasis vulgaris, Pemphigus chronicus vulgaris, Dermatitis herpetiformis Duhring und Erythema nodosum traten normale und erhöhte AST-Werte auf, jedoch überwog die Anzahl der normalen Fälle. Bei Erythema anulare fand sich die gleiche Anzahl an normalen und erhöhten AST-Werten, während bei Erysipel erhöhte AST-Werte im Vordergrund standen.

Die eigenen Untersuchungen warfen die Frage auf, ob aus der ermittelten Verteilung der normalen und erhöhten AST-Werte auf einen Zusammenhang zwischen einer Streptokokkeninfektion als Ursache und der jeweiligen Dermatose als Folge dieser Infektion geschlossen werden könnte. Hierzu dürften die Ansichten einer Reihe von Autoren von Interesse sein, die sich über die Zusammenhänge zwischen Streptokokkeninfektionen und Hautkrankheiten geäußert haben.

So konnte z. B. K i n n a r durch Kristallviolettnachweis nach H a x t h a u s e n die Streptokokkenbefunde S a b o u r a u d ' s bei Impetigo und bestimmten Formen von Intertrigo, Dermatitis und Pityriasis bestätigen.

Nach K r z y s z t a l o w i c z dagegen sollen folgende nach der dem Verfasser eigenen Nomenklatur zitierte Krankheiten durch Streptokokken bedingt sein: Impetigo contagiosa, Ekthyma, Stomatitis, Rhinitis, Angulus infektiosus, Cheilitis, Paronychie, Pemphigus neonatorum, Impetigo bullosa, Ritter'sche Krankheit, Dermatitis herpetiformis Duhring, Erythema exsudativum und Pemphigus vegetans. Nach Ansicht des Verfassers sollen langjährige klinische, histologische und bakteriologische Untersuchungen ergeben haben, daß diese Krankheiten ätiologisch miteinander eng verknüpft seien. Der Verfasser bezeichnete weiterhin Perlèche und Onychosen als Streptokokkenkrankheiten und betrachtete in einer späteren Veröffentlichung als "mit Einschränkung zugehörig": Dermatitis bullosa der Neugeborenen, Impetigo bullosa der Erwachsenen, Dermatitis exfoliativa, Dermatitis herpetiformis, Erythema exsudativum, Impetigo herpetiformis, Acrodermatitis Hallopeau und Pyodermitis vegetans.

L e o n e stellte bei folgenden Hautkrankheiten Untersuchungen auf Streptokokken an: Bei 24 Fällen von "gewöhnlichen" Ekzemen, bei 16 bakteriell bedingten Ekzemen, bei 16 Fällen von Psoriasis, bei 16 Fällen von Neurodermatitis, bei 3 Fällen von Pellagra, bei 3 Fällen von Lupus erythematodes, bei 3 Fällen von Pityriasis rosea und bei 50 Gesunden. Bei den Gesunden war die Ausbeute gering, während bei den genannten Patienten teilweise erhebliche Bakterienbefunde, vor

allem auch an den kranken Hautstellen, ermittelt wurden. Die gesunden Hautstellen dagegen waren kaum besiedelt. Ein unmittelbarer Zusammenhang zwischen der Menge der Bakterien und dem Ausmaß der Hauterscheinungen war nicht nachweisbar, und der Verfasser ist verständlicherweise der Ansicht, daß das Vorhandensein der betreffenden Keime keineswegs ihre ursächliche Rolle beweist.

M e n z e r hielt die Psoriasis für die cutane Folge einer schleichenden Infektion mit Strepto- und Staphylokokken.

H u d e l o und Mitarbeiter prüften die Reaktion von Streptobzw. Staphylokokkenvaccine intrakutan. Es ergab sich, daß bei 3 Fällen eines nicht näher beschriebenen Ekzems keine Reaktion, bei 10 Patienten dagegen eine geringe Reaktion zu bemerken war. In allen untersuchten Fällen von Psoriasis trat eine starke Reaktion auf, die jedoch als unspezifisch zu bewerten war, da sie sich auch bei der NaCl-Kontrolle zeigte. Bei insgesamt 9 Fällen von Abszessen, Ulcus cruris, Ecthyma und Folliculitis wurden positive Reaktionen ermittelt.

S a n d e r s beschrieb einen Fall von Psoriasis, bei dem Streptokokken aus den erkrankten Hautstellen und aus dem Mund nachgewiesen werden konnten. Er berichtete ferner, daß Streptokokkenserum zusammen mit Streptokokkeneigenimpfstoff und Blaulicht wiederholt mit gutem Erfolg gegeben worden seien.

N ø r h o l m - P e d e r s e n untersuchte bei 237 Psoriasiskranken die AST-Werte im Vergleich zu einer Serie von Personen mit venerischen Krankheiten. Bei den Psoriasiskranken zeigte sich eine deutliche Häufung von erhöhten AST-Werten gegenüber der Kontrollgruppe. Die Aufteilung des Materials nach Altersgruppen sowie nach morphologischen Gesichtspunkten ließ eine Vermehrung von erhöhten AST-Werten in der Altersgruppe von 1 - 29 Jahren und bei den Fällen von akut aufgetretener Psoriasis guttata erkennen. Von insgesamt 70 Patienten mit erhöhtem AST litten 50 an Psoriasis guttata. Bei einem großen Teil dieser Fälle wurden anamnestisch vorangegangene Infektionen gefunden, von denen sich die meisten im Bereich des Nasen-Rachenraums befanden und durch Streptokokken verursacht waren. Auf Grund dieser Ergebnisse hielt der Verfasser es für nötig, bei frischen Schüben von Psoriasis nach derartigen Infektionen zu fahnden.

Der Verfasser konnte außerdem bei 133 Psoriasispatienten in 44 % der Fälle in der Anamnese eine provozierende Infektion feststellen. In 75 % dieser Fälle war die Infektion durch Streptokokken verursacht worden; meistens handelte es sich um Halsinfektionen. In etwa einem Drittel der Fälle wurde ein Anstieg des AST festgestellt. Herdinfek-

tionen schienen in den jüngeren Altersklassen am häufigsten vorzukommen und bei Frauen häufiger als bei Männern zu sein. Sie veranlaßten nach Ansicht des Verfassers oft den ersten Ausbruch der Psoriasis und waren in der Regel mit Psoriasis guttata kombiniert.

N o r r l i n d untersuchte 32 Patienten mit schnellen Eruptionen von ausgedehnter Psoriasis, in 27 Fällen davon Psoriasis guttata. 18 von diesen 32 Patienten zeigten eine positive ASR, 200 A.S.U. oder darüber. Von diesen 18 hatten 10 Infektionen des Rachens oder der oberen Luftwege kurz vor der Eruption von Psoriasis gehabt.

Von den übrigen 14 Patienten, von denen 10 negative AST-Werte zeigten und 4 in dieser Hinsicht nicht untersucht wurden, hatten 5 Infektionen der oberen Luftwege und 1 Erysipel gleich vor dem Ausbruch der Psoriasis. Bei 11 dieser Patienten konnten ß-haemolytische Streptokokken im Rachen nachgewiesen werden.

Die unterschiedlichen Werte der ASR bei Psoriasis waren offensichtlich darauf zurückzuführen, daß einem neuen Ausbruch der Psoriasis häufig eine Erkältungskrankheit (Schnupfen, Kopfschmerzen, Mandelentzündung) vorausging. Wurde diese Fokalinfektion durch Streptokokken hervorgerufen, so konnte beim Ausbruch der Schuppenflechte ein hoher AST nachgewiesen werden. Es ist jedoch fraglich, ob er in direktem Zusammenhang mit der Psoriasis stand.

Dies zeigten auch die Ergebnisse von S o n c k und W i d h o l m, die 228 Psoriasis-Patienten untersuchten. Von 43 Patienten mit Psoriasis guttata fanden sich bei 35 Patienten AST-Werte über 200 A.S.U., während von 185 Patienten mit Psoriasis vulgaris nur 95 Patienten AST-Werte über 200 A.S.U. aufwiesen.

S o n c k und W i d h o l m untersuchten außerdem 131 Patienten mit Lupus erythematodes. Bei 53 dieser Patienten wurden AST-Werte über 200 A.S.U. gefunden.

D e n e c k e untersuchte 1 Patienten mit akutem und 42 Patienten mit chronischem Lupus erythematodes. Die ASR war nur im akuten Fall stark positiv, während in chronischen Fällen meist schwach positive, oder aber negative Ergebnisse auftraten.

G r a y schilderte e i n e n Fall von Lupus erythematodes chronicus, bei dem nach einer Autovaccineinjektion, die aus einem aus dem Hals isolierten Streptokokkenstamm gewonnen worden war, eine akute Exacerbation seines Lupus erythematodes auftrat und vom Verfasser als "Herdreaktion" aufgefaßt wurde. Der Verfasser schloß aus diesem Fall, daß der Streptococcus haemolyticus als Erreger des Lupus erythematodes chronicus anzusprechen sei.

S o n c k berichtete über 11 Fälle von Acne conglobata, bei denen der AST in sämtlichen Fällen erhöht war und Werte zwischen 250 und 1.600 A.S.U. gefunden wurden.

Ferner sollen nach P r o c h á z k a die Streptokokken einen ätiologischen Faktor des Pemphigus vulgaris und des Ekzems darstellen.

Auf Grund der eigenen Untersuchungen kann die Ansicht der oben genannten Verfasser jedoch nicht uneingeschränkt geteilt werden. Die Zahl der eigenen Ergebnisse bei den einzelnen Hautkrankheiten ist jedoch noch zu gering, um bindende Aussagen über eine Beteiligung oder Nichtbeteiligung der Streptokokken bei den einzelnen Dermatosen machen zu können, da für die eigenen Untersuchungen zunächst eine breite Basis gewählt wurde, um aus der Vielzahl der Hautkrankheiten zunächst diejenigen herauszufinden, bei denen durch ausgedehnte Reihenuntersuchungen mit der ASR eventuell eine Streptokokkeninfektion als maßgeblicher ätiologischer Faktor dieser Dermatosen dargestellt werden könnte.

Wenn auch durch ausgedehnte Untersuchungen die Möglichkeit besteht, Hautkrankheiten auf die Beteiligung von Streptokokken zu prüfen, so muß dennoch berücksichtigt werden, daß der AST nicht allein durch die gerade vorliegende Krankheit bedingt sein muß, sondern durch eine Reihe von sekundär und oft unbemerkt verlaufenden Infektionen oder durch vorangegangene Allgemeinkrankheiten bedingt sein kann. Darauf weisen die erhöhten AST-Werte bei "Gesunden" und die in Tabelle Nr. 2 aufgezeichneten Ergebnisse bei Allgemeinkrankheiten hin, aus denen hervorgeht, daß hohe AST-Werte vor allem bei akuten ß-haemolytischen Streptokokkenkrankheiten, Tonsillitis, Scharlach, Erysipel, bei akuten Schüben der Polyarthritis, bei sekundär chronischer Polyarthritis sowie akuter und chronischer Glomerulonephritis auftraten. Seltener wurden hohe AST-Werte bei Morbus Bechterew sowie Periarthritis und Tendinitis beschrieben. Bei primär chronischer Polyarthritis und Endocarditis stehen sich erhöhte und normale AST-Werte gegenüber, während bei isolierten Schulter- und Hüftgelenkskrankheiten und bei Ischias bisher nur normale Titer gefunden wurden.

C o b u r n und P a u l i nahmen auch Untersuchungen an 35 herzkranken Kindern vor, deren Herzfehler bei 34 Patienten rheumatisch bedingt war. Von 17 Patienten entwickelte sich nach einer frischen Streptokokkeninfektion bei 14 Patienten ein akuter Rheumatismus. Bei diesen Fällen trat eine Steigerung des AST auf. Sowohl die klinischen wie die bakteriologischen und die immunologischen Untersuchungsergebnisse zeigten nach Ansicht der Verfasser, daß die schweren rheumatischen Affektionen auf den gefundenen haemolytischen Streptokokkentyp zurückzuführen waren.

S t u a r t stellte bei seinen Untersuchungen fest, daß Krankheiten der oberen Luftwege mit haemolytischen Streptokokken gewöhnlich einen Anstieg des AST bedingen. Die Produktion und die Titerhöhe des Antistreptolysins erschien bei Racheninfektionen mit diesen Keimen durchwegs geringer als bei Hautinfektionen wie Erysipel. Beide aber riefen eine stärkere Reaktion als Infektionen des Uterus hervor.

W i n b l a d und Mitarbeiter stellten bei ihren Untersuchungen fest, daß von 96 Rheumatismuskranken 96,6 % der Fälle einen erhöhten AST aufwiesen. Der AST war während des Verlaufs der Krankheit höher als im ersten akuten entzündlichen Stadium des Rheumatismus.

Da nicht nur bei Kranken, sondern auch bei "Gesunden" durch Banalinfekte Erhöhungen des AST hervorgerufen werden können, wird die Heranziehung der ASR zur Klärung der Genese, insbesondere der Hautkrankheiten, eingeschränkt und nur dann möglich sein, wenn anamnestisch eine solche banale Streptokokkeninfektion ausgeschlossen werden kann. Es erscheint daher notwendig, nicht nur einmalige Bestimmungen des AST vorzunehmen, sondern durch mehrfach wiederholte Kontrolluntersuchungen einen An- oder Abstieg des AST zu erfassen.

Wie aus der Tabelle Nr. 1 zu entnehmen ist, weist eine erhebliche Prozentzahl der sogenannten Gesunden bereits AST-Werte über 200 A.S.U. auf. Aus der Tabelle Nr. 1 geht weiterhin hervor, daß die AST-Werte bei Gesunden von Norden nach Süden abnehmen. Dies wäre eine Bestätigung der Erfahrungen von C o b u r n und P a u l i , die bei ihren Untersuchungen in Nordamerika nachweisen konnten, daß die AST-Werte im allgemeinen südlich des 35. Breitengrades niedriger seien als nördlich des 40. Breitengrades.

G o r d o n und B a l t e a n u berichteten, daß in Rumänien bei ihren Untersuchungen an Gesunden nur in so seltenen Fällen ein AST über 200 gefunden wurde,daß man indiesen Fällen nach Ansicht der Verfasser auf eine frische Streptokokkeninfektion schließen müsse. Werte zwischen 100 und 200 A.S.U. können nach Ansicht der Verfasser ebenfalls auf diese Möglichkeit schließen lassen, aber auch in normalen Grenzen liegen.

Nach den Ergebnissen von L a g e r c r a n t z hatten 16 % der von ihm untersuchten Personen einen AST über 200 A.S.U. Dieser Befund entsprach den an anderen Orten Schwedens gefundenen Werten, lag aber höher als in den andern Ländern. Der Verfasser schlug daher vor, die Grenze der pathologischen Werte von 200 A.S.U. auf 320 A.S.U. heraufzusetzen.

S c h ø n e und S t e e n führten AST-Bestimmungen bei 544 Blutspendern durch, bei denen vorher eine genaue Anamnese bezüglich Streptokokkeninfektionen und Untersuchungen der Nasen- und Rachenabstriche vorgenommen wurden. Bei klinisch Gesunden konnte eine gewisse Parallele zwischen dem Vorhandensein von Streptokokken in Nase und Rachen und erhöhtem AST gefunden werden. Die Verfasser schlugen daher vor, die Grenze zwischen normalen und pathologischen Titern nicht bei 200 A.S.U. festzulegen, sondern Werte von 160 bis 240 A.S.U. als "zweifelhaft" anzusehen und, sofern keine andere Krankheit vorliegt, eine Kontrolluntersuchung in Verbindung mit bakteriologischer Untersuchung von Nase und Rachen vorzunehmen.

Nicht nur Krankheiten, sondern auch individuelle physiologische und immunologische Faktoren können die Antikörperbildung gegenüber einer Streptokokkeninfektion und damit den AST beeinflussen. Diese sind nicht immer erfaßbar, jedoch bei einmaligen AST-Bestimmungen unbedingt in Rechnung zu setzen.

Nach M e a d e r und R o b i n s o n sowie W e i n s t e i n soll das Haemolysierungsvermögen von Streptokokken durch Lecithin aufgehoben werden können. Das Lecithin scheint einmal auf das Haemolysin selbst einzuwirken, aber auch für die Erythrocyten eine gewisse Schutzsubstanz darzustellen. Die Hemmung dauerte auf Nährböden nur so lange, wie ein bestimmtes Verhältnis zwischen der vorhandenen Blutmenge und dem zugefügten Lecithin bestand. Durch Cholesterin konnte die hemmende Wirkung wieder aufgehoben werden.

Nach P a c k a l é n traten unspezifische Reaktionen mit hohen AST-Werten bei Hepatitissera, verunreinigten Sera und bei längere Zeit bestehenden Pleuraexsudaten auf. Die Unspezifität wurde dadurch bewiesen, daß der Hemmungsfaktor durch spezifisches Haemolysin nicht absorbiert wurde. Im Elektrophoreseversuch blieb der Hemmungsfaktor im wesentlichen in der ß- und α-Globulinfraktion, in denen sich auch das Cholesterin anhäuft, während die spezifischen Antikörper in der γ-Fraktion gefunden werden. Durch Lipoidextraktion ließ sich der Hemmungsfaktor entfernen, nicht aber durch das spezifische Haemolysin. Der Nachweis, daß der Effekt wie bei den Hepatitissera durch eine Erhöhung des freien Serumcholesterins bedingt sei, ließ sich nicht führen. Als primärer Mechanismus für die unspezifische Hemmung wurde eine chemische bzw. fermentative Einwirkung auf den Lipoproteinkomplex angenommen, die dazu führt, daß die freiwerdenden Cholesterine eine Bindung mit den Streptolysinmolekülen eingehen.

Nach Feststellungen von H e w i t t und T o d d soll Cholesterol sowohl die haemolytische als auch die tödliche Wirkung des Streptolysin O der haemolytischen Streptokokken neutralisieren; ebenso wie Kongorot (G o r d o n) und Trypanblau (I t o). Normale Kaninchensera sollen Streptolysin jedoch nicht neutralisieren, obgleich sie Cholesterol enthalten. Normalserum, das absichtlich oder zufällig mit bestimmten Bakterien in Berührung gebracht worden war, konnte intensive Streptolysin O neutralisierende Wirkung entwickeln. Die Verfasser konnten in zahlreichen Versuchen nachweisen, daß man Mäuse vor der tödlichen Wirkung des Streptolysin O schützen kann, wenn man ihnen vorher Cholesterol injiziert. Streptolysin S konnte weder durch Cholesterol noch durch infizierte Sera neutralisiert werden; beide Lysine jedoch konnten durch Lecithin neutralisiert werden, wenn keine Proteine vorhanden waren.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die Bestimmung des AST offensichtlich nur dann bindende Schlüsse auf die Streptokokkengenese einer vorliegenden insbesondere Hautkrankheit zuläßt, wenn die Vielfalt der sie beeinflussenden Faktoren berücksichtigt und unter Umständen ausgeschlossen werden kann. Wenn auch die eigenen Ergebnisse darauf hinzuweisen scheinen, daß bei bestimmten Hautkrankheiten vermehrt erhöhte AST-Werte auftreten, so wäre die Klärung einer eventuellen Streptokokkengenese nur dann möglich, wenn in sehr ausgedehnten und fortlaufenden Reihenuntersuchungen eine Parallele zwischen dem klinischen Verlauf und dem An- und Absteigen des AST beobachtet werden könnte, zumal die bisherigen Untersuchungen bei Hautkrankheiten in der gesamten Weltliteratur nur einen überaus geringen Umfang einnehmen und oft aus einer nur kleinen Zahl ermittelter Resultate ohne genügende Kontrolluntersuchungen weitgehende Schlüsse gezogen wurden.

Zusammenfassung.

Nach einem Überblick über die historische Entwicklung und das Prinzip der Antistreptolysinreaktion wurde die zur Zeit übliche Methode für die Untersuchungen mit der Antistreptolysinreaktion besprochen. Diese Technik wurde auch für die eigenen Untersuchungen in ihren Grundzügen beibehalten, jedoch wurden eigene vereinfachende Modifikationen angewendet. Nach eingehender Besprechung der durch andere Autoren ermittelten Antistreptolysintiter-Werte bei Allgemein- und Streptokokken-Krankheiten wurden insbesondere die Untersuchungsergebnisse mit der Antistreptolysinreaktion bei Hautkrankheiten besprochen und 210 eigenen Untersuchungen gegenübergestellt. Aus den vergleichenden Untersuchungen ging hervor, daß die in den bisherigen Veröffentlichungen mitgeteilten erhöhten Antistreptolysintiter-Werte bei Dermatosen in Einzelfällen wohl zutreffen können, doch muß auf Grund der eigenen Ergebnisse angenommen werden, daß nur umfangreiche Reihenuntersuchungen an Hautkranken mit der Antistreptolysinreaktion bei gleichzeitigem Ausschluß von vorangehenden oder begleitenden Streptokokkeninfektionen bindende Schlüsse auf eine mögliche Streptokokkengenese zulassen würden.

Am Schluß der vorliegenden Arbeit möchte ich nicht versäumen, Herrn Professor Dr. S c h u e r m a n n meinen besonderen Dank für die Überlassung des Themas auszusprechen.

Außerdem danke ich Herrn Dr. Klaus G r e g o r c z y k und Herrn Dr. Rudolf D o e p f m e r für ihre wertvollen Anregungen.

Literatur

Anderson, H. C., Kungel, H. G. und Mc Carty, M.	zit. nach Schultze, Schwick und Vasters Ärztl. Wschr. 14, 324 (1954)
Bernheimer, A. W.	Properties of certain rapidly acting bacterial toxins as illustrated by streptolysins O and S. Bacter. Reviews 12, 195 (1948).
Besredka, A.	De l'hémolysine streptococcique. Ann.de l'Institut Pasteur T.XV Nr. 12 Ref.Zbl.Bakt. 31, 576 (1902)
Benthin, W.	Beiträge zur Haemolysefrage der Streptokokken. Zbl.Bakt. I. Orig. 67, 83 (1912)
Böni, A.	zit. nach Scheiffarth und Legler Ärztl. Wschr. 28, 660 (1951)
Bourdin, A.	Sur l'antihémolysine streptococcique du serum de cheval. C.r.Soc.Biol. 102, 1020 (1929)
Braun, H.	Über das Streptolysin. Zbl.Bakt. I. Orig. 62, 383 (1912)
Browning, J.S, Rice, R. and Clifford, U.	Alteration in blood proteins in Rheumatic patients. Amer.J.Med.Sci. 221, 183 (1951)
Carlisle, J. M.	zit. nach Scheiffarth und Legler Ärztl. Wschr. 28, 660 (1951)
Césari, E., Cotoni, L. et Lavalle, J.	Recherches sur l'hémolysine streptococcique. Ann. de l'Institut Pasteur 41, 919 (1927
Christ, P.	Serologische Untersuchungen bei Streptokokkeninfektionen. - Arbeiten aus dem Paul-Ehrlich-Institut, dem Georg-Speyer-Haus und dem Ferdinand-Blum-Institut zu Frankfurt a. M. 51, 124
Christ, P.	zit. nach Schultze, Schwick u.Vasters. Ärztl. Wschr. 14, 324 (1954)
Coburn, A. F. and Pauli, R.H.	Studies on the immune response of the rheumatic subject and its relationship to activity of the rheumatic process. I. The determination of antistreptolysin titer. J.Exper.Med. 62, 129 (1935)
Coburn, A.F. and Pauli, R.H.	Studies on the immune response of the rheumatic subject and its relationship to activity of the rheumatic process. II. Observations on an epidemie of influenza followed by hemolytic streptococcus infections in a rheumatic colony. J.Exper.Med. 62, 137 (1935)

Coburn, A.F. and Pauli, R.H.	Limited observations on the antistreptolysin titer in relation to latitude. J. Immun. 29, 515 (1935)
De Kruif, P.H. and Ireland, P.M.	Streptolysin J.Inf.Dis. 1920, 285
Demartino, R.	Sul rapporto tra il potere emotossico e la virulenza degli streptococchi. Riforma med. 1913, Nr. 27
Denecke, K.	Komplementbindungsreaktionen von Tuberkelbazillen, Staphylokokken- und Streptokokken-Antigenen im Serum Erythematodeskranker. Dermat. Wschr. 125, 73 (1952)
Faber, V.	zit.nach Schultze, Schwick u. Vasters Ärztl.Wschr. 14, 324 (1954)
Gordon, J.	The action of congo red on streptococcal haemolysin and on B. Welchii haemolysin. J. Path. 34, 439 (1931)
Gordon, J. E. et Balteanu, E.	La réaction de l'antistreptolysine (nature, technique et application à l'épidémiologie pratique). Arch.Roum.Path.Expér. 10, 325 (1937)
Gray, A.M.H.	A case of chronic lupus erythematosus with acute exacerbations in which streptococci were cultivated from the circulating blood. Miscell.Dermatologa F.Samberger 1931, 134
Gregorczyk, K.	(Persönliche Mitteilung)
Greifelt, A., Gregorczyk, K. und Doepfmer, R.	Zur Technik des Nelson-Tests und deren neueren Modifikationen. Arch.Dermat.u.Syph. 197, 105 (1954)
Hamburger, M. u. Lemon, H.M.	The failure of antistreptolysin to protect against streptococcal infection. J.Lab.A.Klin.Med. 42, 140 (1953)
Haxthausen, H.	Streptococcal pityriasis. Lancet 1927, II, 270
Hellens, A.V.	Über Bakterienhaemolysine. Finsk Veterinär - Tidskrift 1913, 49 Ref. Zbl.Bakt. 61, 592 (1914)
Helles, O. v.	Untersuchungen über Streptolysin. C.Bakt.I.Orig. 68, 602 (1913)
Hewitt, L.F. and Todd, E.W.	The effect of cholesterol and of sera contaminated with bacteria on the haemolysins produced by haemolytic streptococci. J. Path. 49, 45 (1939)
Hodge, B.E. and Swift, H.F.	Varying hemolytic and constant combining capacity of streptolysins; influence on testing for antistreptolysins. J.Exper.Med. 58, 277 (1933)
Hudelo, L., Chène, R. et Sigwald, J.	Intradermoreactions aux vaccines antistreptococciques et antistaphylococciques au cours des épidermites microbiennes escématiformes. Zbl.Haut-u.Geschl.krh. 30, 33 (1929)

Ito, R. Über die hochgradige Steigerung des Haematoxinbildungsvermögens des streptococcus haemolyticus durch Nucleinsäure. VI. Mitt.über die spez.entgiftende Wirkung der Farbstoffe der Trypanblaureihe auf das Streptolysin. Fol.Japan.Pharmakol. 30, 11 (1940) Ref.Zbl.Bakt. 140, 98 (1941)

Jungmann, A. Über Streptokokken bei Scharlach. D.Arch.klin.Med. 106, 3/4, 283 (1912)

Kalbak, K. The Antistreptolysin Reaction. (A.S.R.) I. Technic. Koppenhagen 1947

Kalbak, K. Agglutination of haemolytic streptococci (group A) in serum from patients with rheumatoid arthritis. Ann.Rheumat.Dis. 6, 230 (1947)

Kalbak, K. Seroreaktionen bei rheumatischen Krankheiten. D.Med.Journ. 5, 11/12, 315 (1954)

Kerr, A. Ann.Allerg. 11, 73 (1953) Zit.nach Schultze, Schwick u. Vasters Ärztl. Wschr. 14, 324 (1954)

Kilbourne, D. and Loge, J. Ph. Zit. nach Scheiffarth und Legler Ärztl.Wschr. 28, 660 (1951)

Kinnar, J. An investigation into the streptococci found in certain diseases of the skin. Brit.J.Exper.Path. 12, 384 (1931)

Köhler, W. Die Antistreptolysinreaktion (ASR). Ztschr.d.Ges.Wesen IX, 33, 992 (1954)

Köhler, W. Die Antistreptolysinreaktion in der Differentialdiagnostik rheumatischer Erkrankungen. Ztschr.d.Ges.Wesen IX, 33, 992 (1954)

Köhler, W. Die Antistreptolysinreaktion in der Differentialdiagnostik rheumatischer Erkrankungen. Zschr.Ges.Inn.Med.u.Grenzgeb. 9,16, 809 (1954)

Krzysztalowicz, F. Die Rolle des Streptococcus in der Hervorrufung von Hautveränderungen. Przcpl.Dermat.26,148 (1931) Ref.Zbl.Haut-u.Geschl.krkh.39,418 (1932)

Krzysztalowicz, F. Rôle du streptococoque dans la pathogénie des dermatoses. Bull.internat.Acad.pol.Sci.,Cl.Méd.Nr.3 61, 89 (1931)

Lagercrantz, R. Hemolytiska streptokocker och antistreptolysiner hos friska. Nord.Med. 40, 2143 (1948) Ref. Zbl.Bakt. 147, 390 (1950)

Landsteiner, K. Über das Streptokokkenlysin. Zbl.Bakt.I.Orig. XLII, 785 (1909)

Leone, R.	Sulla quantità e sul significato degli streptococchi in alcune dermatosi eritemato-squamose, eritemato-vesiculose largamente essudanti. Giorn.Ital.Dermat. 82, 1203 (1941) Ref.Zbl.Haut- u. Geschl.krkh.69,217 (1943)
Lewin, E.	Über Streptokokkolyse. Nord.Med.Arkiv Afd.II Häft 3 Nr.15 (1903) Ref.Zbl.Bakt.XXXV, 515 (1904)
Löfgren, S.	Acta tuberc.Scand.19,240 (1945) zit.nach Sonck und Widholm Ztschr.Haut-u.Geschlkrkh.XVII,Heft 6, 175 (1954)
Löfgren, S.	Acta med.Scand. 124, Suppl.174 (1946) zit.nach Sonck und Widholm Ztschr.Haut-u.Geschl.krht.XVII Heft 6, 175 (1954)
Lyall, H.W.	Observations on hemolysinproduction by the streptococci. J.Med.Research Vol.30,515 (1940)
Marmorek, A.	Das Streptokokkengift. Berl.klin.Wschr. 12,253 (1902)
Meader, P.D. and Robinson, G.H.	Biological and physical properties of the hemotoxin of streptococci. J.Exper.Med. 32, 639 (1920)
Mc Neill, J. and Mallory, T.B.	Studies on the oxydation and reduction immunogical substances. IV. Streptolysin. - Ibid. 241 Ref.Zbl.Bakt. 84, 104 (1927)
Menzer, A.	Bakterienbefunde bei Psoriasis. D.Med.Wschr. 2119 (1912)
M'Leod, J.W.	On the haemolysin produced by pathogenic streptococci, and on the existence of anti-haemolysin in the sera of normal and immunised animals. J.Path.and Bakt.Vol.XVI Nr.3,321 (1912)
M'Leod, J.W. and M'Nee, J.W.	On the anaemia produced by the injection of the haemolysin obtained from streptococci, and on the question of natural and acquired immunity to streptolysin. J.Path.and Bakt.Vol. 17, 525 (1913)
Morales-Otero, P. and Pomales-Lebron, A.	Antistreptolysin values in the general population of Puerto Rico. Proc.Soc.Exper.Biol.a.Med.44,211 (1940) Ref.Zbl.Bakt.139, 240 (1941)
Nørholm-Pedersen, A.	Infections and psoriasis. Acta Dermato-Ven. 32, 159 (1952)
Nørholm-Pedersen, A.	Streptococcal infections and psoriasis. A comparison between antistreptolysin values in a series of patients with psoriasis and a venerical "normal series" in 3 age-groups. Acta Dermato-Ven.32,Suppl.29,245 (1952)

Norrlind, R. — Psoriasis following infections with hemolytic streptococci. Acta Dermato-Ven. 30,64 (1950)

Packalén, T. — Nonspezific antistreptolysin reactions and serum (or pleural exudate) cholesterol. J.Bakt. 56, 143 (1948)

Porsmann, V.A. — Streptococagglutination og antistreptolysintiter ved polyarthritits chronica primaria. Nord.Med. 40, 2147 (1948) Ref.Zbl.Bakt. 147, 392 (1950)

Procházka, K. — Der Streptococcus als ätiologischer Faktor des Pemphigus vulgaris und des Ekzems. Zbl.Haut-u.Geschl.krht.29,65 (1929)

Rantz, L.A. and Randall,E. — Proc.Soc.Exper.Biol.A.Med. 59,22 (1945) zit.nach Schultze,Schwick und Vasters Ärztl.Wschr. 14,324 (1954)

Rantz, L.A., Randall, E. and Rantz, H.H. — Antistreptolysin O. Study of this antibody in health and in hemolytic streptococcus respiratory disease in man. Amer.J.Med. 1948,164, J.Amer.Assoc. 1948, 989

Rosenthal, E. — Untersuchungen über die Beeinflussung der Haemolyse von Mikroorganismen. Ztschr.Hyg.Inf.75, 569 (1913)

Ruediger, E.H. — The production and nature of streptolysin. J.Amer.Med.Assoc. 1903, 17.oct.

Sabouraud, R. — Sur les dermatoses chroniques streptococciques. Presse méd. I, 33 (1930)

Sanders, G.G. — A case of psoriasis, isolation of monilia from the skin scales, mouth, and sputum. Lancet II,1226 (1925)

Saxholm, R. — Antistreptolysinreaksjonen. Nord.med. 40, 2140 (1948) Ref.Zbl.Bakt. 147, 391 (1950)

Scheiffarth, F. u. Legler, F. — Serologische und klinische Erfahrungen mit der Antistreptolysinreaktion bei akutem und chronischem Gelenkrheumatismus. Ärztl.Wschr. 28, 660 (1951)

Schlesinger, A. — Experimentelle Untersuchungen über das Haemolysin der Streptokokken. Ztschr.Hyg.u.Inf.Krankht.XLIV,428 (1903)

Schøne, R. und Steen, E. — Antistreptolysintiter (AST) hos friska. Nord.Med. 42, 1863 (1949) Ref.Zbl.Bakt.149,309 (1952)

Schottmüller, H. — zit. nach Köhler Ztschr.d.Ges.Wesen IX, 33, 992 (1954)

Schultze, H.E., Schwick, G. und Vasters, H. — Nachweis von Antistreptolysin O mit stabilem Trockenantigen. Untersuchungsergebniss bei gesunden Personen. Ärztl.Wschr.14,324 (1954)

Seegal, D. and Lyttle, J.D.	Antistreptolysintitre of the serum in acute glomerular nephritis. Proc.Soc.Exper.Biol.a.Med.31,211 (1933)
Seifert, H. u. Tichy, H.	Die Antistreptolysinreaktion in der Differentialdiagnostik rheumatischer Erkrankungen. Ztschr.d.ges.Inn.Med.u.Grenzgeb. 17, 794 (1953)
Slade, H.D. and Knox, G.A.	The formation of streptolysin O on a defined medium by a group A Streptococcus. 5.Intern.Kongr.Microbiol.Rio de Janeiro, Aug.1950 Ref.Zbl.Bakt. 150, 452 (1952)
Sonck, C.E.	Der AST bei Acne conglobata. Ztschr.Haut-u.Geschl.krkh.XVII,1,8 (1954
Sonck, C.E. und Widholm, O.	Zur Frage der Antistreptolysin- und Antistaphylolysintiter bei einigen Hautkrankheiten. Ztschr.Haut-u.Geschl.krkh.XVII,6,175 (1954)
Stuart, R.D.	Antistreptolysin titres of human sera in health and in various streptococcal infections. J.Hyg. 36, 26 (1936)
Sugihara, C.Y. and Squier, Th.L.	J.Allergy 22, 264 (1951) zit. nach Schultze,Schwick u. Vasters Ärztl.Wschr. 14, 324 (1954)
Swift, H.F. and Hodge, B.E.	A simply prepared broth producing streptococcal hemotoxin (streptolysin). Proc.Soc.Exper.Biol.a.Med.30,1022 (1933)
Thulin, K.E.	On the occurence of antistreptococcal O agglutinins in the serum of patients with acute or chronic polyarthritis. Acta Path.et Microbiol.Scand.XXV, 264 (1948) Ref.Zbl.Bakt. 148, 176 (1951)
Todd, E.W.	Observations on the virulence of haemolytic streptococci Brit.J.Exper.Path. 8, 289 (1927)
Todd, E.W.	Antigenic streptococcal hemolysin. J.Exper.Med. 55, 267 (1932)
Todd, E.W.	Antihaemolysin titres in haemolytic streptococcal infection and their significance in rheumatic fever. Brit.J.Exper.Path. 13, 248 (1932)
Todd, E.W.	The hemolysin produced by streptococci in serum media as an antigen and its effect on antistreptolysin in vitro. J.Path. 36, 435 (1933)
Todd, E.W.	A comparative serological study of streptolysins derived from human and from animal infections, with notes on pneumococcal haemolysin, tetanolysin and staphylococcus toxin. J.Path. 39, 299 (1934)

Todd, E.W. — The differentiation of two distinct serological varieties of streptolysin, streptolysin O and streptolysin S. J.Path. 47, 423 (1938)

Todd, E.W. — Lethal toxins of haemolytic streptococci and their antibodies. Brit.J.Exper.Path. 19, 367 (1938)

Todd, E.W. — The streptolysins of various groups and types of haemolytic streptococci; a serological investigation. J.Hyg. 39, 1 (1939)

Todd, E.W. and Hewitt, L.F. — A new culture medium for the production of antigenic streptococcal haemolysin. J.Path. 35, 973 (1932)

Weinstein, L. — The effect of lecithin on streptococcal and staphylococcal haemolysin. J.Inf.Dis. 60, 209 (1937)

Winblad, S. — Studies in haemolytic streptococcus fibrinolysin, antifibrinolysin and antistreptolysin with particular reference to rheumatic fever. Ref.Zbl.Bakt. 142, 241 (1943)

Winblad, S., Malmros, H. and Wilander, O. — Studies on the pathogenesis of rheumatic fever. II. The antistreptolysin titre in acute tonsillitis. Acta Med.Scand.133, 358 (1949)

Lebenslauf

Am 9. August 1927 wurde ich in Würzburg als Tochter des Universitätsprofessors Dr.med. Karl B a e r t h l e i n und seiner Ehefrau Emmy geborene Geiß geboren. Nach Besuch der Volksschule (1934-1938) und der Oberschule für Mädchen in Würzburg (1938 - 1945 und 1946 bis 1947) legte ich am 17. Juli 1947 die Reifeprüfung an der Mozart-Schule in Würzburg ab. Während der durch die Kriegs- und Nachkriegsverhältnisse erzwungenen Unterbrechung meiner Schulzeit (1945-1946) arbeitete ich in der ärztlichen Praxis und im bakteriologischen Laboratorium meines Vaters. Bis zum Beginn des medizinischen Studiums im Sommersemester 1948 war ich im studentischen Arbeitseinsatz an der Staatlichen Bakteriologischen Untersuchungsanstalt in Würzburg tätig. Im Juli 1949 legte ich den 1. Teil und im Juli 1950 den 2. Teil der ärztlichen Vorprüfung ab. Nach 5 klinischen Studiensemestern an der Universität Würzburg beendete ich am 16. Juli 1953 das medizinische Staatsexamen. Während der Pflichtassistentenzeit war ich vom 1. August - 31. Oktober 1953 in der Allgemeinpraxis zur Ableistung des Landvierteljahres und anschließend vom 1. November 1953 bis 31. Oktober 1954 an der Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten der Universität Würzburg tätig. Vom 1. November bis 31. Dezember 1954 arbeitete ich als Volontärassistentin an der Universitätsklinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten und bin seit dem 1. Januar 1955 im Institut für Hygiene und Mikrobiologie der Universität Würzburg tätig.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe.

Gertraud Baerthlein.

RUDOLF BAEHR DRUCK- UND WERBETECHNIK
WÜRZBURG EGLOFFSTEINSTR. 5